

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Республиканское унитарное предприятие
«Институт экспериментальной ветеринарии
имени С. Н. Вышелесского»

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ ПАТОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ В АГРОПРОМЫШЛЕННОМ КОМПЛЕКСЕ

Материалы Международной научно-практической конференции,
посвященной 95-летию РУП «Институт экспериментальной
ветеринарии имени С. Н. Вышелесского»

Минск, 16–17 ноября 2017 г.

Минск
«Беларуская навука»
2017

УДК [619:616+636.09](082)

ББК 48я43

С56

*Рекомендовано Ученым советом
РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
имени С. Н. Вышелесского» (протокол от 07.09.2017 г. № 5)*

С о с т а в и т е л ь

кандидат ветеринарных наук Ю. В. Ломако

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

Ю. В. Ломако (гл. редактор), М. В. Якубовский (зам. гл. редактора),
И. А. Красочко, М. П. Кучинский, А. П. Лысенко, И. В. Насонов

Современные проблемы ветеринарной патологии и биотехнологии
С56 в агропромышленном комплексе : материалы Междунар. науч.-практ.
конф., посвящ. 95-летию РУП «Институт экспериментальной ветерина-
рии имени С. Н. Вышелесского», Минск, 16–17 ноября 2017 г. / Нац. акад.
наук Беларуси, Ин-т эксперимент. вет. им. С. Н. Вышелесского ; сост.
Ю. В. Ломако ; редкол.: Ю. В. Ломако (гл. ред.) [и др.]. – Минск :
Беларуская навука, 2017. – 429, [1] с.

ISBN 978-985-08-2214-7.

Опубликованные материалы представляют собой результаты экспериментальных исследований по вирусным и микробным болезням сельскохозяйственных животных, а также по эпизоотологическим и диагностическим методам исследований, лечению и профилактике паразитарных, заразных и незаразных болезней.

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

Материалы публикуются в виде, представленном авторами, без дополнительного научного редактирования.

УДК [619:616+636.09](082)

ББК 48я43

ISBN 978-985-08-2214-7

© РУП «Институт экспериментальной
ветеринарии имени С. Н. Вышелесского», 2017
© Оформление. РУП «Издательский дом
«Беларуская навука», 2017

**Ю. В. Ломако, М. В. Якубовский, И. А. Красочко,
Д. С. Борисовец, И. В. Насонов, А. П. Лысенко,
Н. Ю. Щемелева, М. П. Кучинский, М. И. Черник,
Т. Н. Каменская, И. И. Кузьминский,
Н. И. Костюк, А. Е. Ларькова**

**НАУКА ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ БЕЛАРУСИ:
РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ДОСТИЖЕНИЙ
И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ**

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
имени С. Н. Вышелесского», г. Минск, Беларусь*

«Медицинский врач лечит человека,
ветеринарный – оберегает человечество».

С. С. Евсеенко*

Первые упоминания о науке «ветеринарная медицина» уходят в седую древность. По мере развития общества совершенствовались методы и способы диагностики, лечения и профилактики болезней. Изучение болезней животных всегда было тесно связано с медицинскими аспектами выявления, лечения и профилактики болезней человека. Известно, что в своих работах Гиппократ (460–352 гг. до н. э.), Аристотель (384–322 гг. до н. э.), Публий Вергилий Маро (70–19 гг. до н. э.), Абу-Али-ибн-Сина (Авиценна, 980–1037 гг.) и их многочисленные последователи во все времена описывали и разрабатывали средства и способы терапии болезней как человека, так и животных. И сегодня, благодаря активному сотрудничеству ученых ветеринарной медицины и медицины гуманной, наблюдается эффективная профилактика зоонозов – болезней, общих для человека и животных.

Научное обеспечение ветеринарной медицины в совокупности с веками наработанным практическим опытом являются тем фундаментом, на основании которого осуществляются ветеринарные мероприятия по борьбе с болезнями животных. Наука приобрела статус производительной силы и является эффективным приемом в решении главных социально-экономических задач в Беларуси.

Создание и совершенствование РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» началось еще в 1922 г., когда был организован «Ветеринарно-бактериологический институт», впоследствии переименованный

* Годы жизни – 1850–1915. Магистр ветеринарной медицины, публицист, основатель Московского и Варшавского ветеринарных обществ.

в БелНИВИ, директором которого в 1928–1930 гг. был академик Сергей Николаевич Вышелесский.

В настоящее время РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» – это многопрофильное научно-исследовательское республиканское унитарное предприятие, в состав которого входят 10 отделов: отдел вирусных инфекций, отдел бактериальных инфекций крупного рогатого скота, отдел болезней птиц, пчел и физико-химических исследований, отдел молекулярной биологии, отдел паразитологии, отдел токсикологии и незаразных болезней животных, отдел патологии размножения и ветеринарной санитарии, отдел культур клеток и питательных сред, отдел ветеринарных технологий, опытно-экспериментальный отдел. Часть экспериментальных работ в институте проводится в виварии и питомнике лабораторных животных. Также в институте функционируют группа научно-технической информации, сертификации и патентования, отдел материально-технического снабжения и сбыта, группа кадровой работы, инженерно-хозяйственная служба, отдел бухгалтерского учета, отдел экономического учета и планирования.

Обеспечивают весь объем работ в институте 150 человек, в том числе 64 научных сотрудника, среди которых один академик НАН Беларуси, один член-корреспондент ААН Республики Беларусь, 7 докторов наук, 39 кандидатов наук, из них – 5 профессоров и 9 доцентов.

Основными направлениями деятельности РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» являются:

- постоянный мониторинг эпизоотической ситуации по наиболее распространенным, особо опасным болезням, зоонозам в Беларуси и за ее пределами;
- теоретическое обоснование, разработка и научное сопровождение освоения методов диагностики, лечения и профилактики инфекционных, паразитарных и незаразных болезней животных, птиц и пчел;
- конструирование и создание современных вакцин, сывороток, средств диагностики, фармакологических препаратов, средств коррекции обмена веществ, обеспечивающих ветеринарную защиту животных и получение экологически чистой продукции животноводства;
- проведение экспертной оценки научного обеспечения АПК страны по ветеринарным проблемам;
- подготовка научных кадров высшей квалификации;
- научно-практическая помощь специалистам животноводства.

В институте функционирует совет по защите диссертаций Д.01.51.01 по специальностям: 03.02.11 – паразитология; 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология (ветеринарные и биологические науки). Созданы научные школы по подготовке кадров высшей квалификации: академика НАН Беларуси Н. А. Ковалева, академика Н. Н. Андросика, члена-корреспондента ААН Республики Беларусь М. В. Якубовского, профессоров П. А. Красочко, Г. А. Обьедкова, А. П. Лысенко.

Отдел вирусных инфекций был создан в 1964 г. В его составе находится лаборатория вирусных инфекций крупного рогатого скота, лаборатория биотехнологии, лаборатория вирусных инфекций свиней, группа по изучению болезней плотоядных.

В 1964 г. организовал и возглавлял лабораторию вирусологии кандидат ветеринарных наук, доцент В. А. Демидов. С 1976 по 2000 г. отделом руководил доктор ветеринарных наук, профессор, академик НАН Беларуси Н. А. Ковалев; с 2000 г. по 2017 г. – доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор П. А. Красочко; с 2017 г. и по настоящее время – кандидат ветеринарных наук Д. С. Борисовец. Лабораторию биотехнологии возглавляет кандидат биологических наук А. А. Згировская, группу по изучению болезней плотоядных – кандидат ветеринарных наук Д. В. Бучукури.

В разное время в отделе работали доктор ветеринарных наук, профессор И. А. Красочко, доктора ветеринарных наук А. С. Ястребов, С. И. Музычин, А. С. Шашенько, А. И. Ерошов.

Сегодня в отделе работает 21 сотрудник, в том числе 3 доктора наук и 6 кандидатов наук.

Основные направления научной деятельности отдела:

- разработка и внедрение в широкую практику средств диагностики и специфической профилактики инфекционных болезней крупного рогатого скота, свиней и плотоядных бактериальной и вирусной этиологии;
- проведение диагностических и мониторинговых исследований при вирусных респираторных и желудочно-кишечных инфекциях молодняка крупного рогатого скота и свиней;
- разработка научно обоснованных нормативных документов по борьбе с вирусными и прионными инфекциями сельскохозяйственных животных;
- обеспечение животноводческих хозяйств и комплексов вакцинами, иммуностимуляторами и химиотерапевтическими препаратами;
- оказание консультационной и научно-практической помощи животноводческим хозяйствам Республики Беларусь.

С учетом эпизоотической ситуации в животноводческих хозяйствах Республики Беларусь сотрудниками отдела вирусных инфекций разработано более 18 современных вакцин против вирусных и вирусно-бактериальных болезней свиней и крупного рогатого скота, которые характеризуются высокой профилактической (85–95 %) и экономической эффективностью – от 2,8 до 10,0 рублей на 1 рубль затрат.

В отделе разработано более 10 экологически безопасных лечебно-профилактических фармакологических препаратов на основе пробиотиков, рекомбинантного интерферона, бактериальных липополисахаридов, наночастиц биоэлементов с эффективностью 80–95 %.

За последние 20 лет сотрудниками отдела было получено 35 патентов на изобретения и подано более 25 заявок на изобретения, опубликовано 25 монографий, утверждено 35 ТНПА на вакцины, диагностикумы и химфармпрепараты,

издано более 45 методических указаний и рекомендаций; достижения сотрудников отмечены 8 золотыми и 3 серебряными медалями на международных выставках.

В отделе ведется подготовка научных кадров высшей квалификации: 1 аспиранта и 4 соискателей; защищено 11 докторских и 48 кандидатских диссертаций.

Разработки сотрудников отдела широко внедрялись в хозяйствах Республики Беларусь, различных стран СНГ – России, Украине, Грузии, Молдове, странах Прибалтики. Специалисты отдела регулярно проходят стажировку в ведущих ветеринарных центрах мира, в том числе в референтных лабораториях МЭБ, а также постоянно принимают участие в научных конференциях России, Украины, Молдовы, Польши, Германии, Нидерландов и других стран мира.

Отдел бактериальных инфекций крупного рогатого скота был создан в феврале 2015 г. Заведующий отделом – Ломако Юрий Васильевич, кандидат ветеринарных наук, доцент. В отделе работает 13 сотрудников, из них 4 кандидата наук. В состав отдела входит испытательная лаборатория диагностики инфекций и контроля качества ветеринарных препаратов, аккредитованная по системе менеджмента в соответствии с СТБ ИСО/МЭК 17025, а также группа, ведущая коллекцию микроорганизмов (вирусов, бактерий).

Научные труды сотрудников отдела охватывают комплекс вопросов диагностики, лечения и профилактики желудочно-кишечных и респираторных болезней молодняка сельскохозяйственных животных. Значительный объем исследований посвящен вопросам биотехнологии – разработке средств специфической профилактики бактериальных инфекций, а также средств иммунокоррекции и диагностики.

За годы существования в отделе был разработан ряд препаратов – вакцина инактивированная эмульгированная для профилактики колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протейоза крупного рогатого скота (вакцина КСКП), за последние 4 года ее было реализовано более полмиллиона доз. Вакцина инактивированная эмульгированная против пневмонии телят «Пневмобакт» обладает не только профилактическим, но и лечебным эффектом. Иммуностимулирующий препарат «Сапофор» имеет широкий спектр эффективности при различных патологиях. Ветеринарный препарат «Рибаглутам» обладает противовирусным действием. Также в отделе разработан и выпускается диагностический набор тест-сывороток для типизации адгезивных *Escherichia coli* F4 (K88), F5 (K99), F6 (987P), F41, F17 (A20), применение которого очень важно при лабораторной диагностике колибактериоза.

Сотрудниками отдела оказывается научно-консультативная помощь по вопросам диагностики, профилактики и терапии бактериальных инфекций хозяйствам Республики Беларусь и ближнего зарубежья.

Результаты исследований сотрудников отдела легли в основу опубликованных ими более 300 научных трудов, в том числе более 60 учебно-методических указаний, рекомендаций и технических условий, более 150 научных

статей, материалов конференций, тезисов. Практическая значимость полученных результатов подтверждена 30 патентами.

Достижения сотрудников демонстрируются на конкурсах Молдавии, Румынии, России и отмечены 8 золотыми, 3 серебряными медалями, благодарственными дипломами. Препараты, разработанные в отделе, производятся на базе института и пользуются широким спросом в хозяйствах Республики Беларусь. Получено множество положительных отзывов после их применения. Налаживаются контакты с зарубежными партнерами для реализации производимой продукции.

Активно производится подготовка научных кадров. Научные сотрудники отдела являются научными руководителями двух соискателей. На базе отдела проходят стажировку, научную практику, подготовку курсовых и дипломных работ студенты биофака Белгосуниверситета.

Отдел болезней птиц, пчел и физико-химических исследований был создан в 2015 г. В его состав входит лаборатория болезней пчел.

С 2008 г. отделом руководит доктор ветеринарных наук, доцент Насонов Игорь Викторович.

Ситуация в мире по заразным болезням птиц остается напряженной, а их вспышки периодически возникают в разных странах земного шара. Серьезную опасность для птицеводства создают вирусные болезни птиц: болезнь Ньюкасла, инфекционный бронхит кур, инфекционная бурсальная болезнь, реовирусная инфекция кур и др. С вхождением Беларуси в Таможенный союз существует опасность заноса таких новых для Беларуси заболеваний, как аденовирусная инфекция птиц, парамиксовирусная инфекция птиц.

В последнее десятилетие грипп птиц стал одной из наиболее актуальных инфекций, к которой приковано внимание мировой общественности, поскольку вирус вызывает беспрецедентные по масштабам и экономическому ущербу эпизоотии в странах Юго-Восточной Азии и завоевывает все новые страны и территории.

Отдел болезней птиц обеспечивает проведение научных исследований по изучению эпизоотической ситуации, выяснению этиологии и патогенеза, а также разработке новых средств диагностики, лечения и профилактики наиболее распространенных заболеваний птиц инфекционной и незаразной этиологии.

В отделе налажено производство и организован выпуск вакцин против болезни Ньюкасла, инфекционного бронхита, инфекционной бурсальной болезни, инфекционного ларинготрахеита. Разработаны вакцины против болезни Марека, синдрома снижения яйценоскости, реовирусной инфекции, респираторного микоплазмоза, сальмонеллеза птиц; антиоксидантные, иммуностимулирующие, витаминные, пробиотические и сорбентные препараты, белково-витаминно-минеральные добавки, препарат «Урамин» для лечения заболеваний мочевыводящей системы птиц в промышленном птицеводстве. Разрабатываются нормативные документы, готовятся научные кадры высшей квалификации.

Всего в отделе подготовлены и защищены 2 докторские и 26 кандидатских диссертаций, получено 27 авторских свидетельств и патентов на изобретения, опубликовано 26 монографий и справочных изданий, разработано 56 методических рекомендаций и ветеринарно-санитарных правил.

В настоящее время отдел проводит внедрения по итогам выполнения семи заданий Национальной программы Республики Беларусь «Инновационные биотехнологии», Государственной научно-технической программы «Агрокомплекс – устойчивое развитие», Государственной программы «Инновационные биотехнологии» на 2010–2012 годы и на период до 2015 года, подпрограммы «Малотоннажные биотехнологии», ГНТП «Агропромкомплекс», подпрограммы «Агропромкомплекс – устойчивое развитие» на 2013–2015 годы.

В отделе выполняется задание по изучению роли аргинин-нитрооксид синтазной системы в иммунитете и возможности применения L-аргинина в качестве метаболического регулятора для развития поствакцинального иммунитета у птиц промышленного разведения» по государственной программе «Инновационные технологии в АПК» (2016–2018 гг.). Поданы и готовятся проекты по диагностике реовирусной инфекции, распространению и профилактике аденовирусного гидроперикардита кур, гемофиллеза птиц, ведется работа по хозяйственной деятельности с птицеводствами Беларуси.

Лаборатория болезней пчел была создана в 1970 г., руководителем ее является кандидат ветеринарных наук Черник Максим Иванович.

Болезни пчел связаны в основном с деградацией естественной кормовой базы пчел и аномалией глобального климата. Это главные причины высокой гибели медоносных пчел. Наглядный пример этому – быстрое распространение по миру «азиатской» ноземы. Во многих случаях гибель пчелосемей происходит в результате взаимодействия нескольких факторов. Одной из причин массовой гибели пчел является также эволюция профессионального (коммерческого) сектора пчеловодства в «пчеловодных державах», сопровождающаяся расширением масштабов перевозок пчел и параллельно с этим – их паразитов и болезней.

Масштабное применение пестицидов, особенно системных препаратов нового поколения, нарушение инструкций и правил применения химических средств защиты растений – одни из главных причин высокой гибели медоносных пчел и других насекомых-опылителей.

Сотрудники лаборатории болезней пчел проводят фундаментальные и прикладные исследования в области диагностики, лечения и профилактики болезней пчел. Важнейшими результатами научных исследований являются разработанный экологически безопасный акарицидный препарат пролонгированного действия против варроатоза пчел «Формагель». Сконструирован также протостатный препарат против нозематоза и амебиаза пчел под названием «Протостат», разработан лечебно-профилактический корм для пчел «Апифуд».

Сотрудники лаборатории проводили фундаментальные исследования в рамках двух грантов Белорусского Республиканского фонда фундаментальных

исследований «Изучение закономерностей проявления микозных патологий у пчел и изыскание способов их ликвидации» и «Теоретически обосновать и изучить закономерности проявления токсических свойств пестицидов в отношении хозяйственно важных видов опылителей для разработки необходимых критериев, регламентов и приемов, обеспечивающих сохранение и эффективное использование насекомых-опылителей».

В 2008 г. получен «Патент на полезную модель» № 4165 «Устройство для дезинфекции воздуха в животноводческих помещениях». Совместно с сотрудниками Государственного научного учреждения «Институт экспериментальной ботаники имени В. Ф. Купревича Национальной академии наук Беларуси» поданы две заявки «Способ получения средства для борьбы с энтомопатогенным грибом *Ascosphaera apis*» и «Состав для борьбы с энтомопатогенным грибом *Ascosphaera apis*».

Ученые лаборатории принимали участие в разработке проекта «Программа развития пчеловодства на 2010–2015 гг.». Проводили актуализацию и вносили изменения в стандарты: «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Пчелы медоносные: тест на острую пероральную токсичность»; «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Пчелы медоносные: тест на острую контактную токсичность»; межгосударственные стандарты ГОСТ (пересмотр ГОСТ 20728-75) «Семьи пчелиные. Технические условия»; ГОСТ (пересмотр ГОСТ 25629-83) «Пчеловодство. Термины и определения»; Государственного реестра средств защиты растений (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь.

Отдел молекулярной биологии был создан в 2010 г. В его состав вошли научные сотрудники отдела бактериальных инфекций и отдела зоонозных и особо опасных инфекций. Первым заведующим отделом стал кандидат ветеринарных наук Лемиш Артем Петрович. С 2014 г. отдел возглавляет доктор ветеринарных наук, профессор Лысенко Александр Павлович.

Основные направления научной деятельности отдела – изучение проблем диагностики, профилактики и ликвидации туберкулеза животных, разработка молекулярно-генетических методов диагностики инфекционных заболеваний.

Значительный вклад в изучение проблем туберкулеза внес доктор ветеринарных наук, профессор А. П. Лысенко. Благодаря его исследованиям разработан и внедрен полный комплекс методов диагностики туберкулеза крупного рогатого скота. Разработана мембранная технология получения туберкулина очищенного для млекопитающих, отвечающего международным требованиям и превосходящего аналоги по целому ряду показателей, которая внедрена на ОАО «Белвитунифарм». С 2004 г. предприятие полностью удовлетворяет потребность животноводства республики в диагностикуме. Эффект от импортозамещения к настоящему времени превысил 5 млн долларов США. Для дифференциации реакций на туберкулин А. П. Лысенко разработан «Набор для обнаружения антимикобактериальных антител и определения их специ-

фичности в сыворотке крови крупного рогатого скота в иммуноферментном анализе» и «Набор для выявления в крови антигенов микобактерий и их комплексов с антителами в иммуноферментном анализе». Ежегодно по договорам с хозяйствами с применением наборов исследуется до 2000 проб. Получены принципиально новые данные о биологии возбудителей туберкулеза и сформированы новые подходы к бактериологической и молекулярно-генетической диагностике болезни. Разработаны «Набор для ускоренного выявления микобактерий туберкулеза», «Набор реагентов для микроскопического выявления типичных, измененных неокислостойчивых форм микобактерий туберкулеза и их антигенов», «Набор для выявления ДНК микобактерий в биологическом материале», предназначенные для обнаружения туберкулезной инфекции у млекопитающих путем выявления типичных, измененных неокислостойчивых (с дефектной клеточной стенкой) форм микобактерий туберкулеза и их антигенов.

А. П. Лысенко создана научная школа по проблемам диагностики инфекционных и паразитарных заболеваний. Им подготовлено 11 кандидатов ветеринарных и биологических наук и 1 доктор ветеринарных наук.

Сотрудниками отдела молекулярной биологии для диагностики актуальных инфекционных заболеваний животных в полимеразной цепной реакции (ПЦР) разработан целый спектр тест-систем:

- 1) для обнаружения РНК возбудителя:
 - *парагриппа-3* КРС методом ПЦР «PCR PIV-3»;
 - *вирусной диареи* КРС методом ПЦР «PCR VD»;
 - *ротавирусной инфекции* КРС методом ПЦР «PCR rota»;
 - *инфекционного ринотрахеита* КРС методом ПЦР «PCR IPT»;
- 2) для обнаружения энтеротоксигенных штаммов (ETEC) *Escherichia coli* у КРС методом ПЦР «PCR LT-colis»;
- 3) для обнаружения ДНК возбудителя:
 - *Mannheimia haemolytica* у КРС методом ПЦР;
 - *туберкулеза* у КРС методом ПЦР «PCR Tub»;
 - *некробактериоза* у КРС методом ПЦР «PCR necro»;
 - *сальмонеллеза* у КРС и свиней методом ПЦР «PCR Salm»;
 - *актинобациллярной пневмонии* у свиней методом ПЦР;
 - *гемофильного полисерозита* у свиней методом ПЦР;
 - *цирковируса тип-2* у свиней методом ПЦР «PCR pcv-2»;
 - *парвовирусной болезни свиней* методом ПЦР «PCR PARVO»;
 - *болезни Ауески свиней* методом ПЦР «PCR PARVO»;
 - *PPCC* у свиней методом ПЦР «PCR PPCC»;
 - *АЧС* у свиней методом ПЦР «PCR АЧС»;
 - *бордетеллиоза* у свиней методом ПЦР «PCR Bordetella bronchiseptica»;
- 4) для дифференциальной диагностики *Pasteurella multocida* типов А, В, D (multiplex) у КРС и свиней в ПЦР.

А. П. Лысенко за последнее время опубликовано две монографии: «Диагностика латентных форм туберкулеза на основе новых данных биологического развития возбудителя в системе крови», «Современная лабораторная диагностика туберкулеза» (в соавторстве с В. В. Власенко и И. Г. Власенко). Научные статьи по биологии возбудителя туберкулеза публиковались в международных журналах «Clinical and experimental medical sciences» и «Journal of Molecular Pathological Epidemiology».

Проведена значительная работа по совершенствованию нормативной базы и ее гармонизации с европейскими требованиями. Разработаны и введены в действие «Санитарные и Ветеринарно-санитарные правила по профилактике и ликвидации заболеваний, общих для человека и животных. Туберкулез» и Ветеринарно-санитарные правила «Диагностика туберкулеза животных».

В отделе проводятся перспективные исследования по изучению микобактерий туберкулеза с измененной клеточной стенкой и их роли в патологии животных и человека, начаты исследования по разработке диагностических тест-систем для ПЦР в реальном времени, создании рекомбинантных антигенов и генно-инженерных вакцин.

Первые исследования **по паразитарным болезням животных** начались в Белорусском НИВИ с 1956 г., т. е. со времени создания **лаборатории гельминтологии** (заведующий – М. Н. Акрамовский) и **лаборатории протозоологии** (заведующий – П. М. Мордасов). Это был период изучения, в основном, эпизоотической ситуации по паразитозам.

В период работы академика Р. С. Чеботарёва директором БелНИВИ и одновременно заведующим лабораторией гельминтологии в 1959–1968 гг. была продолжена работа по мониторингу паразитарных болезней животных и птиц, а также разрабатывались средства для лечения и профилактики инвазионных болезней, в том числе испытывались лекарственные и кормовые растения.

Р. С. Чеботарёв является автором уникальных книг «Справочник по ветеринарной и медицинской паразитологии» (1971 г.), «Очерки по истории медицинской и ветеринарной паразитологии» (1977 г.). За период с 1959 по 1976 г. под его руководством подготовлено 10 кандидатов наук.

В течение 20 лет (1968–1988 гг.) директором института и заведующим отделом паразитологии был профессор И. С. Жариков, а до 1979 г. лабораторией гельминтозов жвачных животных заведовала кандидат ветеринарных наук А. Ф. Бобкова.

В указанный период основное внимание уделялось изучению эпизоотического процесса при фасциолезе, парамфистоматидозах, диктиокаулезе и некоторых других гельминтозах.

Итогом многолетней работы стали книги профессора И. С. Жарикова «Биологические основы борьбы с трематодозами жвачных» (1973 г.), «Гельминтозы жвачных животных» (1977 г.) и др. За период своей научной деятельности профессор И. С. Жариков подготовил 10 кандидатов наук.

С 1979 г. по настоящее время заведующим отделом паразитологии является член-корреспондент Академии аграрных наук Республики Беларусь, доктор ветеринарных наук, профессор М. В. Якубовский.

В течение этого времени изучался эпизоотический процесс при нематодозах желудочно-кишечного тракта свиней, трематодозах, цестодозах и нематодозах жвачных животных и лошадей, гельминтозах диких и пушных животных – зубров, благородных оленей, косуль, кабанов, лисиц, норок. Также изучались гельминтозы рыб. Были выявлены новые возбудители инвазионных болезней у свиней – оллуланы (М. В. Якубовский, А. В. Ежелев, 1988 г.) и криптоспоридии – у крупного рогатого скота, овец и свиней (М. В. Якубовский, Т. Я. Мясцова, 1990 г.).

Ряд работ был посвящен изучению влияния паразитов на организм животных (М. В. Якубовский, Т. Я. Мясцова, С. И. Лавор, С. И. Веренич, М. А. Ананчиков, С. С. Липницкий, А. В. Ежелев, А. Н. Безбородкин, А. П. Свиридова, Л. А. Шунько, С. В. Полоз, В. И. Длубаковский, Е. А. Степанова, Е. А. Кирпанова, Н. Ю. Щемелева, И. И. Кузьминский, В. П. Василькова, О. П. Пепеляева и др.; 1980–2016 гг.).

В это время проводились исследования по изучению уровня иммунитета при паразитарных болезнях животных, в том числе поствакцинального (М. В. Якубовский, Т. Я. Мясцова, С. И. Веренич, М. А. Ананчиков, Е. А. Степанова, Н. Ю. Щемелева, О. П. Пепеляева и др.).

Итогом работы по изучению иммунитета животных стало издание монографии «Иммунокоррекция в клинической ветеринарной медицине» (П. А. Красочко и др., 2008 г.), «Паразитарные зоонозы» (М. В. Якубовский и др., 2012 г.).

В течение длительного периода времени сотрудниками отдела паразитологии проводятся исследования с целью создания современных и эффективных средств борьбы с возбудителями паразитарных болезней (М. В. Якубовский, Т. Я. Мясцова, Е. А. Степанова, Н. Ю. Щемелева, В. П. Василькова и др.; 1985–2016 гг.). Создано более 35 новых противопаразитарных препаратов, в том числе тимбендазол 22,2 %-ный, тимтетразол 20,0 %-ный, альбендатим 10,0 %-ный, ивермектим 1,0 %-ный, клозантим, ципервет, левамизол гидрохлорид 7,5 %-ный, таблетки тимбендазола, тимтетразола и альбендатима; разработаны оригинальные комплексные препараты – сульфаметил, гербабектин, метрафендазол, клозамектим, а также комплексные препараты с иммуностимулирующими свойствами – феналзол, гельминтовет, тетрагельминтоцид, трифастим, полипарацид, янсеvit и др.

Среди разработанных лекарственных средств есть и уникальные препараты, например, ивермектим, в 1 мл которого содержится 1 мг ивермектина в специальном растворителе. Препарат используют для профилактики и лечения гиподерматоза крупного рогатого скота путем подкожного введения. После его применения ограничений по использованию молока и мяса в пищу нет.

С этой же целью впервые разработан способ внутрикожного введения ивермектина 1,0 %-ного с высокой эффективностью.

Впервые создана вакцина для профилактики гиподерматоза крупного рогатого скота (М. В. Якубовский, Е. А. Степанова, Т. Я. Мяцова, 2014 г.).

Разработана химиопрофилактика кишечных нематодозов свиней и система мероприятий по профилактике гельминтозов свиней (М. В. Якубовский, 1987 г.).

По итогам многолетних исследований разработаны и утверждены инструкции: по профилактике и терапии телязиоза крупного рогатого скота; о мероприятиях по борьбе с гиподерматозом крупного рогатого скота; о мероприятиях по борьбе с ангуилликолезом угря и др.

Всего подготовлено и утверждено более 50 инструкций, 35 наставлений, 28 методических рекомендаций.

С 2010 г. на Минском заводе ветеринарных препаратов налажен выпуск ряда разработанных в отделе паразитологии препаратов (феналзол, гельминтовет, тетрагельминтоцид, полипарацид, янсеvit). Произведено и реализовано в хозяйства Беларуси свыше 5,3 т данных препаратов.

В ООО «Экотехника» Пуховичского района осуществляется производство комплексного антгельминтика «Фенбет-20», разработанного сотрудниками отдела паразитологии. Всего произведено и реализовано свыше 5000 кг препарата.

В отделе паразитологии подготовлены и успешно защищены 2 докторские и 38 кандидатских диссертаций, получено 12 авторских свидетельств и 22 патента, 5 удостоверений на рацпредложения, 4 медали ВДНХ СССР. Изданы 38 книг, в том числе 3 учебника по паразитологии. Созданы научно-популярные фильмы «Фасциолез сельскохозяйственных животных» и «Стронгилоидоз».

Перспективными направлениями исследований являются:

- постоянный мониторинг паразитарных болезней животных;
- разработка новых препаратов по современным технологиям;
- внедрение новых схем и методов профилактики паразитозов;
- подготовка научных кадров высшей квалификации;
- издание методических рекомендаций, справочников, монографий по паразитарным болезням;
- оказание помощи производству.

Отдел токсикологии и незаразных болезней животных был создан в 2008 г. С начала образования и по настоящее время отдел возглавляет доктор ветеринарных наук, профессор Кучинский Михаил Павлович. В отделе работают научный сотрудник Г. М. Кучинская, младший научный сотрудник Т. М. Савчук, младший научный сотрудник О. Л. Акулинич и биолог Е. А. Мицук.

Деятельность отдела базируется на научных школах, созданных под руководством кандидатов ветеринарных наук Д. П. Иванова, А. Т. Иванова, Д. А. Гириса.

В последние годы подготовкой научных кадров высшей квалификации занимается заведующий отделом М. П. Кучинский. Под его руководством подготовили и защитили кандидатские диссертации Ю. В. Вериги, И. А. Белькевич, Л. Л. Калюта.

М. П. Кучинский является также научным консультантом соискателя ученой степени доктора биологических наук Д. Н. Федотова, который работает в УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины».

Работа отдела проводится по приоритетным направлениям научной деятельности. Основное из них – разработка оригинальных и дженерических лечебно-профилактических ветеринарных препаратов на основе химических субстанций, биоэлементов, витаминов и органических кислот, научное обоснование доз и схем их применения животным при наиболее распространенных болезнях молодняка и взрослых сельскохозяйственных животных, а также научно-методическая и консультативная помощь по вопросам незаразной патологии, организации и ведения фармпроизводства с учетом современных требований.

Наиболее значимые разработки отдела:

- изучение распространения и этиологии болезней минеральной недостаточности животных в условиях хозяйств Республики Беларусь;
- разработка классификации биоэлементозов животных;
- конструирование и внедрение в производство ряда эффективных ветеринарных препаратов (КМП, КМП плюс, дифсел, СТК, тетраминерал, мультивитамин, неоветселен, наноселен, антианемин, антианемин-форте, ципровирин, поливисол, антимиопатик, антимиопатик-2, кума-лакт, кетопровет, реамбилэнд и др.), многие из которых отмечены дипломами и медалями на отечественных и зарубежных выставках.

Перспективные направления исследований отдела:

- организация мониторинга за содержанием во внешней среде (почва, вода, корма, животноводческая продукция и т. д.) токсических химических элементов;
- разработка средств защиты животных на основе оригинальных отечественных лекарственных субстанций;
- изыскание препаратов для борьбы с наиболее распространенными заболеваниями животных с малым периодом ожидания;
- конструирование лекарственных препаратов на основе пребиотиков, нано- и биотехнологий;
- выяснение основных источников поступления в организм животных ксенобиотиков и изучение их биотрансформации;
- усовершенствование существующих, разработка новых методов диагностики незаразных болезней животных и оценки токсичности кормов и ветеринарных препаратов.

Основными направлениями работы **отдела патологии размножения и ветеринарной санитарии** являются:

- изучение этиологических факторов патологии воспроизводительной функции у сельскохозяйственных животных;
- разработка и совершенствование методов диагностики, терапии и профилактики акушерско-гинекологических болезней животных;
- разработка экологически безопасных лекарственных препаратов при эндометритах, маститах и функциональных нарушениях яичников у коров;

– проведение научных исследований в области экологии, дезинфекции, ветеринарной санитарии, ветеринарно-санитарной экспертизы, биологической ценности и безвредности кормов, кормовых добавок, продуктов животноводства (мясо, молоко);

– разработка дезинфектантов, антисептиков для вымени, препаратов для профилактики и лечения гнойно-некротических заболеваний копыт;

– оказание помощи производству в диагностике, разработке специальных мероприятий по профилактике маститов, бесплодия и яловости дойного стада в хозяйствах республики;

– научно-методическая и консультативная помощь по вопросам санитарии, экологии, качества животноводческой продукции;

– разработка ТНПА, технологических регламентов, производство, внедрение и реализация ветеринарных препаратов;

– подготовка монографий, учебных пособий, справочников, брошюр, статей и рекомендаций по проблемам патологии репродуктивных органов, вымени, копыт сельскохозяйственных животных, по разрабатываемым антисептическим и дезинфицирующим средствам, по новым кормовым добавкам;

– проведение и участие в республиканских, областных, межрайонных, районных и межотраслевых семинарах, совещаниях по проблемам воспроизводства стада, болезней вымени, копыт, профилактики заболеваний (дезинфекция, санация), микроклимата в помещениях для содержания животных и птицы.

В рамках пропаганды достижений и передового опыта за 2008–2016 гг. опубликовано 52 статьи в журналах, 25 – в сборниках, подготовлено 18 рекомендаций, правил, инструкций, 2 монографии, проведено 40 курсов по подготовке техников искусственного осеменения животных, принято участие в 68 республиканских, областных и районных совещаниях (семинарах), получено 11 патентов, сделано 199 выездов в хозяйства по оказанию методической и практической помощи. Разработано 8 ТНПА на ветеринарные препараты, которые выпускаются на предприятиях Белзоветснабпрома и производственном участке института.

Наиболее значимые разработки:

– метод ранней диагностики стельности у коров; диагностикум «Беломастин М»;

– комплексная система зооветеринарных мероприятий по борьбе с яловостью крупного рогатого скота и с болезнями органов размножения;

– комплексные препараты «Эндокур», «Диоглихоксан», «Диопрост», «Белэндомаст», «Гонадостим» для лечения коров, больных эндометритом;

– комплексные препараты «Фитодисульфан», «Белмаст», «Белэндомаст» для лечения и профилактики маститов у коров

– антисептики «Экосепт», «Эколин-СЕПТ», «Уберосептол», «Экстрафитомаст»; препарат для лечения и профилактики гнойно-некротических процессов конечностей животных «Калубел»;

– дезинфицирующие средства «Пермокс», «Надкарбосепт», «Криокс».

В 2016 г. реализовано 500 000 доз диагностикума «Беломастин М», 2640 доз препарата «Белмаст» и 10 140 доз препарата «Диопрост».

Перспективные направления исследований:

- разработка и внедрение современных технологий за счет ранней диагностики, профилактики и лечения наиболее значимых заболеваний в акушерстве и гинекологии, сохранения и восстановления репродуктивного потенциала животных;
- разработка препаратов на основе природных полипептидов, разработка композиционных рецептур антисептиков и дезсредств на основе высокоактивных и экологичных компонентов (кислород, аммониевые соединения и др.);
- подготовка кадров высшей квалификации.

В настоящее время в отделе работает 8 человек, в том числе 6 научных сотрудников, среди них 4 кандидата ветеринарных наук и 1 кандидат сельскохозяйственных наук. Заведующий отделом – кандидат ветеринарных наук Кузьминский Иван Иванович. В отделе работают ведущие научные сотрудники кандидаты ветеринарных наук Е. А. Степанова и А. В. Лиленко, кандидат ветеринарных наук Т. Н. Каменская, кандидат сельскохозяйственных наук С. А. Лукьянчик, научный сотрудник Л. Д. Шешко, младший научный сотрудник Л. Л. Кривенко, лаборант I категории Н. А. Даниленко. В отделе защищены 6 кандидатских и 1 докторская диссертации. В настоящее время в нем выполняет работу по подготовке кандидатской диссертации аспирант Ю. С. Рыбчик.

С 2012 г. в состав отдела входит **лаборатория экологии и ветеринарной санитарии**, заведующей которой является Т. Н. Каменская. Деятельность лаборатории базируется на научной школе по экологии, ветеринарной санитарии и ветеринарно-санитарной экспертизе, созданной под руководством доктора ветеринарных наук, профессора А. А. Богуша. Основные направления научно-исследовательской работы лаборатории: разработка мероприятий по ветеринарно-санитарному обеспечению промышленного животноводства и повышение ветеринарно-санитарного качества сельскохозяйственной продукции (молока, мяса, яиц и др.).

Проблемы, решаемые в лаборатории:

- научные исследования в области экологии, дезинфекции, ветеринарной санитарии, ветеринарно-санитарной экспертизы;
- изыскание и испытание современных дезинфицирующих средств для обработки животноводческих помещений и их санации в присутствии животных экологически безвредными средствами, оказывающими также лечебно-профилактическое действие на животных;
- диагностика и профилактика маститов у коров, изыскание и испытание средств обработки молочного доильного оборудования и вымени коров, повышающих качество получаемого молока;
- ветеринарно-санитарная оценка продуктов убоя сельскохозяйственных животных, получаемых при новых технологиях производства, при патологиях животных, использовании нетрадиционных кормов, новых кормовых добавок и фармакологических препаратов;

– изучение токсичности и биологической ценности продукции животноводства (молоко, мясо, яйца) и используемых новых кормов, кормовых добавок в животноводстве;

– бактериологические экспертизы навозных стоков с животноводческих хозяйств;

– экологическая и ветеринарная оценка разрабатываемого в Республике Беларусь оборудования (инсинератор для утилизации тушек птицы, устройство для утилизации осветленных навозных стоков, экструдер для производства кормовых паст в свиноводстве и др.);

– оказание лечебно-консультативной, научно-методической и практической помощи практическим специалистам.

За период с 2007 по 2016 г. было подготовлено и утверждено 6 методических указаний, 4 методические рекомендации. Подготовлена 31 инструкция на дезинфицирующие средства и антисептики для вымени, выпускаемые отечественными и зарубежными производителями. В рамках Государственных программ подготовлены технические нормативные правовые акты (ТНПА) на разработанные в лаборатории препараты:

– средство дезинфицирующее «Пермокс» (действующие вещества – перекись водорода, молочная кислота) предназначено для проведения дезинфекции животноводческих помещений, в том числе в присутствии животных;

– препарат ветеринарный «Калубел» (действующие вещества – ихтиол и цинк серноокислый) предназначен для лечения и профилактики гнойно-некротических процессов дистальных отделов конечностей животных, при первичных и инфицированных ранах;

– средство антисептическое «Экстрафитомаст» (действующие вещества – спиртовые экстракты лекарственных трав, бензойная кислота) применяют для санитарной обработки вымени лактирующих коров и профилактики маститов;

– средство антисептическое «Эколин СЕПТ» (экстракты трав, аналит) применяют для санитарной обработки вымени лактирующих коров и профилактики маститов;

– концентрат средства дезинфицирующего «Надкарбосепт» (перекись водорода, органическая кислота, ЧАС) применяют для проведения профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции животноводческих помещений и их оборудования, предметов ухода за животными, дезинфекционных барьеров и ковров, транспортных средств для перевозки животных;

– средство дезинфицирующее «Криокс» (действующие вещества – янтарная и уксусная кислоты, перекись водорода) предназначено для проведения профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции животноводческих помещений и их оборудования, спецодежды и обуви, предметов ухода за животными.

Также принимали совместное участие с Научно-исследовательским институтом физико-химических проблем Белгосуниверстета в разработке средства «Валисан-К». Совместно с сотрудниками ОАО «Белагромаш» был разработан

«Регламент по применению электрохимических активированных водно-солевых растворов в качестве моющих, дезинфицирующих, стерилизующих, лечебных и других препаратов в сельскохозяйственном производстве, полученных на электрохимических установках, в модификациях УЭХ 60-120, УЭХ 125-250».

Получено 3 патента и решение о выдаче 4 патентов.

Наработаны и внедрены в производство следующие препараты: «Пермокс» – 500 000 доз на комплексах по содержанию крупного рогатого скота и на птицефабриках с экономическим эффектом 4,8 рубля на 1 рубль затрат; «Экстрафитомаст» – 200 000 доз на молочно-товарных комплексах в хозяйствах Минского района с экономическим эффектом 5,51 рубля на 1 рубль затрат; препарат ветеринарный «Калубел» – 20 000 доз в хозяйствах Минского района с экономическим эффектом 6,0 рублей на 1 рубль затрат.

История создания **отдела культур клеток и питательных сред** ведет свой отсчет с августа 1962 г., когда были организованы средоварня и моечная. Организацию вначале лаборатории, отработку методик и режимов изготовления питательных сред, освоение новых методик мойки лабораторной посуды, обучение лаборантов и техников возглавляла Иванова Софья Сергеевна, которая в должности заведующей проработала с 1970 по 1982 г. Под ее руководством в 1972 г. была организована *группа культур клеток*. С 1973 г. началось пробное изготовление первично-трипсинизированных клеток и перевиваемой линии клеток почки эмбриона свиньи версенизированной (СПЭВ). С 1969 г. *в группе питательных сред* в должности лаборанта работала В. А. Михаленок. С 1982 до 1992 г. заведующей отделом была Кудряшова Наталья Тимофеевна. С 1983 г. в лаборатории работала С. С. Лобан. С 2004 г. по настоящее время группу питательных сред возглавляет Алла Николаевна Бурко. С 1992 г. по декабрь 1994 г. руководителем группы культур клеток была Будкевич Светлана Ивановна, с 1995 по 1996 г. – Петрович Людмила Николаевна. С 1996 по 2008 г. заведующей отделом была Савельева Тамара Александровна. В лаборатории культивировали 6 видов перевиваемых культур клеток, изготавливали 7 видов первично-трипсинизированных культур. С 2008 по 2010 г. отдел культур клеток и питательных сред возглавляла Кураш Тамара Петровна. При ней в отделе был создан расширенный банк культур, в котором в замороженном состоянии в жидком азоте хранятся 30 перевиваемых линий клеток. С 2010 по 2014 г. заведующим отделом был назначен Бабак Виктор Александрович. В настоящее время в отделе работают 8 человек: 2 кандидата наук, научный сотрудник, ветврач, 4 лаборанта. Созданы две группы: группа питательных сред и группа культур клеток. С 2014 г. по настоящее время отдел возглавляет кандидат ветеринарных наук Костюк Наталья Ивановна.

Отдел культур клеток и питательных сред является важным подразделением РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелеского» в силу поставленных перед ним задач для успешного выполнения научно-исследовательской работы научных подразделений института. Отдел ведет работу по таким основным направлениям, как:

- приготовление растворов, питательных сред для культур клеток и микроорганизмов;
- выращивание первичных культур клеток и культивирование перевиваемых клеточных линий для вирусологических исследований;
- разработка противовирусных и биологических препаратов.

Цель работы отдела – обеспечить научные подразделения института необходимыми расходными и биоматериалами для выполнения научных исследований и производственных работ.

Основные направления деятельности отдела:

- получение и выращивание первичных и перевиваемых культур клеток, поддержание их жизнеспособности;
- производство питательных сред для бактериологических исследований и масштабного культивирования бактерий;
- подбор и приготовление ростовых и поддерживающих культуральных питательных сред;
- приготовление буферных и солевых растворов;
- получение очищенной и деионизированной воды для собственных нужд и подразделений института;
- стерилизация растворов, лабораторной посуды, форматных частей;
- обеззараживание отработанного биологического материала, поступающего из научных подразделений института.

Всего РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» за период с 2010 по 2016 г. в Белорусском государственном институте стандартизации и сертификации зарегистрировано 154 комплекта технических нормативных правовых актов в области технического нормирования и стандартизации.

В институте организована работа по лицензированию научных и технических разработок, обеспечению регистрации изобретений и полезных моделей. Только за 2010–2016 гг. в Национальный центр интеллектуальной собственности подано 154 заявки, получено 129 патентов Республики Беларусь. За 2015–2016 гг. РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» было заключено 55 лицензионных договоров на использование ТНПА с белорусскими предприятиями ветеринарного профиля.

В 2015–2016 гг. в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» разработана, документально оформлена, внедрена и поддерживается в рабочем состоянии система менеджмента качества (СМК) в соответствии с требованиями СТБ ISO 9001-2009. РУП «БелГИМ» 05.12.2016 г. выдан сертификат соответствия (№ ВУ/112 05.01.003 04808). Область применения СМК – проведение научно-исследовательских работ и осуществление экспериментальной и производственной деятельности в области ветеринарной медицины. Кроме того, испытательная лаборатория диагностики инфекций и контроля качества ветеринарных препаратов института получила аттестат аккредитации по СТБ ИСО/МЭК 17025-2007.

В институте налажено производство биопрепаратов в соответствии с требованиями ISO 9001-2009. Созданные и произведенные в нем вакцины, профилактические и лекарственные средства не только востребованы на внутреннем рынке, но и отправляются на экспорт в Россию, Узбекистан, Казахстан, Азербайджан. Сотрудники *группы научно-технической информации, сертификации и патентования* формируют пакет сопроводительной документации для экспорта продукции института: акты экспертизы происхождения товара, сертификаты формы СТ1, ветеринарные сертификаты на производимую продукцию.

В институте функционирует научная библиотека, которая располагает большим количеством информационных ресурсов по различным отраслям ветеринарии, медицины, биологии, химии, биофизики, сельского и лесного хозяйства и экологии, научной деятельности ученых Беларуси, дальнего и ближнего зарубежья. На начало 2017 г. библиотечный фонд составил около 13 000 экземпляров.

С 2004 г. для публикации научных статей в институте издаются международные научно-практические журналы «Эпизоотология. Иммунобиология. Фармакология. Санитария», «Экология и животный мир», которые включены в перечень изданий Высшей аттестационной комиссии. Кроме того, на полиграфической базе института за 2006–2016 гг. издано более 100 методических указаний, рекомендаций, ветеринарно-санитарных правил. Постоянно разрабатываются рекламные материалы и экспонаты.

Ежегодно РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» принимает активное участие в выставочной деятельности: выставка новейших научно-технических разработок организаций НАН Беларуси в рамках Дня белорусской науки, международная специализированная выставка «БелАгро», международная специализированная выставка «Золотая осень» (Россия), Международная выставка исследований, инноваций и изобретений PROINVENT (Румыния), Международная специализированная выставка «INFOINVENT» (Молдова), Международная агропромышленная выставка «Агрорусь» (Россия) и др. Только за 2014–2016 гг. новейшие разработки института отмечены 15 золотыми, 4 серебряными, 4 бронзовыми медалями, а также многочисленными дипломами 1-й и 2-й степеней.

В стенах института организуются научно-просветительские мероприятия с привлечением средств массовой информации (журналов, газет, телевидения). Так, в апреле 2017 г. была проведена конференция «Ветеринария будущего» для практикующих ветврачей Беларуси, главная задача которой – оказание помощи сельскохозяйственным предприятиям в сохранении здоровья и повышении продуктивности сельскохозяйственных животных.

Разработан и постоянно обновляется сайт института (www.bievm.by), на котором можно получить необходимую информацию об истории института, его структуре, научных разработках, товарах и услугах, новых изданиях, а также сведения об аспирантуре и т. д.

Поступила 27.04.2017 г.

**ЭПИЗООТИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС
ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ПАРАЗИТАРНЫХ
БОЛЕЗНЯХ ЖИВОТНЫХ**

УДК 619:616.9(476)

А. М. Субботин¹, В. В. Максимович²

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ
ЖИВОТНЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ**

*¹Департамент ветеринарного и продовольственного надзора
Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь,
г. Минск, Беларусь*

*²УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия
ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь*

Введение

Инфекционные болезни имеют убиквиторное распространение и представляют собой социально-экономическую проблему для многих государств. В настоящее время в мире зарегистрировано около 500 заразных болезней животных, 200 из которых относятся к зооантропонозам или антропозонозам. В Республике Беларусь диагностировано около 100 инфекционных болезней, из них более 40 общих для животных и человека, в том числе особо опасные (бешенство, сибирская язва, скрепи овец и др.), представляющие реальную угрозу для жизни человека. Количество инфекционных болезней постоянно увеличивается. Так, например, только за последние 30 лет диагностировано около 20 новых инфекционных болезней (губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота; цирковиральная инфекция; репродуктивно-респираторный синдром и эпидемическая диарея свиней; высокопатогенный грипп птиц; болезнь, вызванная вирусом Шмалленберг; и др.).

Особое место в заразной патологии животных занимают и эмерджентные — ранее известные инфекционные болезни животных, распространяющиеся на сопредельные территории и материки. Так, например, Африканская чума свиней (АЧС) с завидным постоянством распространяется на 200–250 км в год на сопредельные территории. Аналогичная закономерность территориального распространения болезней имеет место при нодулярном дерматите крупного рогатого скота и болезни, вызванной вирусом Шмалленберг, жвачных.

Возникновение особо опасных инфекционных болезней приводит к огромным экономическим потерям. Важным негативным последствием возникновения особо опасных заразных болезней животных является также запрет на экспорт животноводческой продукции, удельный вес которой составляет в нашем государстве более 50 % от производимой. Все это указывает на необходимость постоянного мониторинга эпизоотической ситуации в республике и разработки стратегии их профилактики и ликвидации.

Цель работы – изучить эпизоотическую ситуацию по особо опасным болезням в мире и определить стратегию их профилактики в Республике Беларусь.

Материалы и методы исследований

Работа выполнена на кафедре эпизоотологии УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины». Использованы данные Международного эпизоотического бюро (МЭБ), Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь (МСХ и П РБ), областных и районных ветеринарных лабораторий, а также результаты собственных мониторинговых исследований по анализу и прогнозированию эпизоотической ситуации в республике.

Результаты и их обсуждение

По ряду особо опасных болезней эпизоотическая ситуация в мире остается сложной. На июнь 2017 г. АЧС зарегистрирована в 14 странах мира, ящур – в 23, высокопатогенный грипп птиц – в 100, слабопатогенный грипп птиц – в 9, блютанг жвачных – в 15, болезнь Ньюкасла птиц – в 5, бешенства – в 7, бруцеллез – в 4, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота (ГЭ КРС (BSE)) – в 4, контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота – в 4, нодулярный дерматит крупного рогатого скота – в 13, оспа овец и коз – в 6, чума мелких жвачных – в 8, сибирская язва – в 9, сап лошадей – в 2, инфекционная анемия лошадей – в 2, классическая чума свиней – в 2, геморрагическая болезнь кроликов – в 5. В отдельных странах мира регистрируется также лихорадка долины Рифт, лихорадка Западного Нила, контагиозный метрит лошадей, Венесуэльский энцефалит лошадей и другие болезни.

Одной из самых распространенных и беспрецедентных по экономическому ущербу инфекционных болезней в мире, в настоящее время является *высокопатогенный грипп птиц (ВПГП)*. Эта болезнь зарегистрирована почти в 100 странах мира, в том числе России, Казахстане, Украине, Польше, Германии, США и других странах. Количество убитой и уничтоженной птицы в них только в этом году составляет десятки миллионов кур. Прямые убытки достигают сотен миллионов долларов США. Болезнь имеет важное социальное значение, так как вирус высокопатогенного гриппа при прямом контакте с инфициро-

ванной птицей вызывает у людей гриппоподобное заболевание, часто с летальным (до 55,1%) исходом. На территории нашего государства эта болезнь не регистрировалась.

Важнейшим резервуаром вируса ВПГП является дикая водоплавающая птица, миграция которой обеспечивает появление новых случаев болезни и на других территориях и материках. Антитела к вирусу ВПГП H_5N_3 в сыворотках крови диких водоплавающих птиц поймы реки Припять республики обнаружены в 35,6% проб, а к вирусу H_7N_1 – в 9,2 % проб. Как отмечал И. В. Насонов в 2016 г., наибольший процент инфицирования приходится на крякв (58,6%).

С целью профилактики высокопатогенного гриппа птиц Департаментом ветеринарного и продовольственного надзора МСХ и П РБ совместно с Государственным научно-производственным объединением «Научно-практический центр НАН Беларуси по биоресурсам» изучаются миграционные потоки отдельных видов водоплавающей птицы на территории нашей страны в период осеннего и весеннего перелетов, а с Министерством здравоохранения Республики Беларусь разработан «Комплексный план мероприятий по профилактике птичьего гриппа на территории Республики Беларусь». В соответствии с этим планом наряду с выполнением общих ветеринарно-санитарных мер, направленных на повышение уровня биологической безопасности птицеводческих предприятий, проводится ряд следующих мероприятий: исследование патматериала и инкубационного яйца с целью обнаружения вируса высокопатогенного гриппа; серологические исследования на наличие специфических антител в сыворотке крови птиц, птицеводческих предприятий, домашней и дикой, а также суточных цыплят, ввозимых на территорию республики; работникам птицеводческих предприятий запрещено заниматься разведением домашней птицы в их частных подворьях; запрещен ввоз на территорию республики живой птицы, продуктов ее переработки, кормов и кормовых добавок из государств, неблагополучных по высокопатогенному гриппу птиц и др.

Из других особо опасных зооантропонозных болезней птиц в пяти странах мира, в том числе Израиле, Болгарии и Румынии, зарегистрирована *болезнь Ньюкасла*. В нашем государстве иммунная защита кур птицефабрик против болезни Ньюкасла обеспечивается их поголовной иммунизацией вакцинами зарубежных производителей. В последние годы эта болезнь кур, за исключением принадлежащих населению, в республике не регистрируется с 1980 г.

Одной из особо опасных болезней, которая также представляет собой социально-экономическую катастрофу конца прошлого тысячелетия, является *губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота (ГЭ КРС)*. Эта болезнь возникла в 1886 г. в Англии под названием «болезнь бешеной коровы», от которой пало и было вынуждено убито в этой стране свыше 2 млн голов крупного рогатого скота, а экономический ущерб составил около 7 млрд фунтов стерлингов. Название «губкообразная энцефалопатия» было введено для обозначения симптомокомплекса новой болезни, при которой нейроны и серое вещество мозга имеют губкообразную структуру, а клинически болезнь

проявляется длительным, до 8 лет, инкубационным периодом, нервным синдромом и 100 %-ной летальностью. В настоящее время ГЭ КРС (за последние 10 лет) установлена в 25 странах мира, в том числе и в сопредельном с республикой государстве – Польше. В 2017 г. ГЭ КРС зарегистрирована в Ирландии, Испании и Румынии. В Республике Беларусь ГЭ КРС не диагностирована. В странах Европы по причине этой болезни уничтожено более 4 млн голов крупного рогатого скота. Возбудителем ГЭ КРС является прион, который, по мнению отдельных авторов, сохраняется даже при сжигании. При употреблении в пищу мяса, а по последним данным и молока, полученного от больных и находящихся в инкубационном периоде животных, люди заболевают смертельно опасной болезнью Крейтцфельда–Якоба. В мире от нее уже умерло более 200 человек. Имеются предположения, что продукты убоя 900 тысяч голов крупного рогатого скота, находящегося в инкубационном периоде болезни, попали в пищевую цепь человека и это может быть причиной появления от 70 до 80 тысяч новых случаев болезни Крейтцфельда–Якоба. Средства лечения и специфической профилактики при ГЭ КРС не разработаны. Больных животных убивают, а трупы уничтожают. В настоящее время доказано, что прион может преодолевать видовой барьер и аналогичная патология может возникать и у других видов животных. Так, например, диагноз на эту болезнь установлен у кошек. Учитывая особую опасность ГЭ КРС, проводится комплекс мероприятий по ее профилактике на территории нашего государства: запрещен ввоз в республику жвачных и продуктов их убоя из неблагополучных по этой болезни государств; комбикорма, поступающие в Республику Беларусь, контролируются на наличие в них белков жвачных с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР); в республике разработана нормативно-правовая база, регламентирующая деятельность ветеринарных специалистов по профилактике и ликвидации болезни, а именно «Инструкция по мерам профилактики и борьбы с губкообразной энцефалопатией крупного рогатого скота» и «Рекомендации по диагностике губкообразной энцефалопатии крупного рогатого скота». До 2008 г. в лаборатории болезней крупного рогатого скота и особо опасных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышеслесского» проводились исследования патматериала от животных, подозрительных по их заболеванию ГЭ КРС. Подобные исследования необходимо возобновить, так как это является обязательным требованием для признания страны свободной по ГЭ КРС.

Ощутимый ущерб ряду государств мира наносит такая болезнь, как *ящура*. Ежегодно ее регистрируют в 10–80 странах мира. Республика Беларусь благополучна по ящуре с 1983 г. Эта болезнь представляет собой социально-экономическую катастрофу, в десятки раз превышающую ущерб от таких стихийных бедствий, как землетрясения, наводнения, ураганы и т. д. Болезнь может распространяться на огромные территории со 100 %-ной заболеваемостью парнокопытных животных, а в отдельных случаях и людей. Так, в Великобритании с 20 февраля по 26 августа 2001 г. зарегистрировано 1978 очагов ящур,

в результате уничтожено более 3,2 млн животных (овец, крупного рогатого скота, свиней и коз), при этом только прямые убытки составили свыше 20 млрд долларов США. В настоящее время ящур зарегистрирован в 14 странах мира, в том числе в России, Китае и Израиле. С этими крупнейшими государствами мира налажены тесные экономические и торговые связи, упрощен режим перемещения подконтрольных ветеринарным службам грузов. С целью профилактики ящура в нашей республике на каждые 5 лет разрабатываются Национальная программа и План мероприятий по профилактике и ликвидации этой болезни. Ежегодно проводятся мероприятия (учения) по срочному реагированию при возникновении ящура в различных регионах нашей республики. В ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр» с целью мониторинга эпизоотической ситуации по ящуру в республике исследуется ежегодно не менее 200 проб сывороток крови крупного рогатого скота. Специфическая профилактика ящура в нашей стране не проводится. 25 мая 2006 г. МЭБ в соответствии с положениями статьи 2.1.10.2 «Санитарного кодекса наземных животных» утвердило решение о признании Республики Беларусь свободной от ящура и выдала соответствующий сертификат. Учитывая неблагополучие по ящуру стран – членов Таможенного союза, наличие эндемических зон по этой болезни в мире, относительную устойчивость возбудителя во внешней среде и возможность его распространения на значительные территории транспортом, дикими животными, птицей и даже ветром (до 100 км), необходимо проведение комплекса мероприятий по профилактике этой особо опасной болезни в нашей республике.

Увеличивается количество неблагополучных стран в мире по *блютангу* («синий язык», *катаральная лихорадка овец – КЛО*). Неблагополучными по этой болезни в 2017 г. стали более 15 стран мира, в том числе Россия. Болезнь относится к зооантропонозным, природно-очаговым. К ней восприимчивы домашние и дикие жвачные животные, у которых заболевание сопровождается геморрагическим диатезом, катарально-некротическим воспалением слизистых оболочек ротовой полости, языка, желудочно-кишечного тракта, эпителия венчика и основы кожи копыт, сосков вымени. Заболеваемость может достигать 60–90 %, летальность – 40–70 %.

Особенностями нынешней эпизоотической ситуации по блютангу являются: установление клинического проявления КЛО у крупного рогатого скота (ранее считавшегося только вирусоносителем); повышение вирулентности вируса КЛО для человека; выраженная природная очаговость болезни; полиэтиологичность болезни (болезнь могут вызывать 24 серотипа вируса); перемещение основных переносчиков вируса мокрецов *Culicoides* в северном направлении, в результате глобального потепления; установление носительства вируса КЛО альтернативными кровососущими насекомыми (некоторыми видами клещей и комаров), обитающими на Европейском континенте.

Угроза заноса на территорию нашей страны блютанга в первую очередь исходит от стран Юго-Западной и Восточной Европы, где болезнь приняла

широкие масштабы, а также из Восточных регионов России. Заражение самок крупного и мелкого рогатого скота вирусом блютанга возможно также через контаминированную сперму самцов-производителей. Закупка нашей республикой племенных телок и быков-производителей из Западной Европы, у которых зарегистрированы эпизоотии данной болезни, миграция основных переносчиков вируса мокрецов рода *Culicoides* в северном направлении, а также расширение экономических связей увеличивают опасность заноса возбудителя в нашу страну. В Беларуси имеют место отдельные случаи выявления в сыворотке крови крупного рогатого скота антител к вирусу блютанга в диагностических титрах, что указывает на необходимость проведения комплекса мероприятий по профилактике этой болезни в нашем государстве.

Начало второго тысячелетия сопровождается возвратом на территорию бывшего СССР *африканской чумы свиней (АЧС)*. Вновь появившаяся в Грузии в 2007 г. АЧС, из-за непринятия радикальных мер борьбы с этой болезнью, ежегодно распространяется примерно на 250–300 км в глубь сопредельных территорий. Распространяясь в северо-восточном направлении вирус АЧС достиг территории Чешской Республики, где в 2017 г. были зарегистрированы случаи соответствующей болезни. В этом же году неблагоприятными по АЧС стали 14 стран мира, в том числе Россия, Украина, Молдова и др.

Неожиданной особенностью эпизоотического процесса при АЧС явилось резкое снижение его интенсивности для популяции домашних и диких свиней. На крупных промышленных комплексах заболеваемость свиней может составлять не более 10 %, а летальность – 8 %. 100 %-ная летальность при АЧС отсутствует и у диких свиней. Переболевшие домашние свиньи представляют собой источник возбудителя инфекции, а дикие – также резервуар вируса в природе (эндемичность территории) на неопределенно продолжительное время.

В основу профилактики АЧС на территории Республики Беларусь положены следующие основные мероприятия: интеграция при проведении мероприятий с сопредельными государствами и международными организациями (МЭБ, Продовольственной и сельскохозяйственной организацией ООН (ФАО), ВОЗ); усиление биозащиты свиноводческих комплексов, ферм и частных подворьев; уменьшение популяции диких свиней, а в 20-километровой зоне вокруг свиноводческих ферм и комплексов – их полная депопуляция; гранулирование или термическая обработка комбикормов для свиней; запрет на разведение свиней в частных подворьях в 2-километровой зоне вокруг крупных промышленных комплексов; проведение аэрозольной дезинфекции в присутствии животных и другие мероприятия, регламентированные постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29.08.2013 г. № 758 и последующими изменениями и дополнениями к ним.

Продолжает распространяться на сопредельные территории вирус *нодулярного дерматита крупного рогатого скота (НД КРС)*. В 2017 г. неблагоприятными по этой особо опасной болезни стали 13 стран мира, в том числе

Россия. Болезнь характеризуется образованием некротизирующихся кожных узлов (бугорков), а при генерализации инфекционного процесса – лимфодени- том, поражением глаз, слизистых оболочек органов дыхания, воспроизводства (аборты, мертворожденность, бесплодие) и пищеварения. Молочная продук- тивность резко снижается и не восстанавливается. В первичных очагах забо- леваемость может достигать 90 %, а летальность – до 45 %.

Возникает НД КРС в жаркий и влажный периоды года и приурочен к низ- менным, заболоченным местам, где обитает большое количество членистоно- гих различных видов, которые являются основным вектором его распростра- нения на сопредельные территории. С учетом территориальной и сезонной приуроченности болезни можно прогнозировать высокую вероятность воз- никновения болезни в Южных областях республики. С целью профилактики болезни в нашей стране проводится мониторинг перемещения подконтроль- ных ветеринарных грузов из территорий, неблагополучных по НД КРС, раз- работаны «Ветеринарно-санитарные правила профилактики и ликвидации НД КРС», которые предусматривают следующие карантинные мероприятия: в эпизоотическом очаге – отчуждение больных животных, убой их бескров- ным методом и уничтожение; в угрожаемой зоне (3 км) – клинический мони- торинг за животными, обработка их репеллентами и вакцинация; в зоне на- блюдения (10 км) – ежедневный клинический осмотр крупного рогатого ско- та, обработка его репеллентами и дезинфекция.

Непростая эпизоотическая ситуация в мире остается по *сибирской язве*. Эта болезнь зарегистрирована в 2016–2017 гг. в 9 странах мира, в том числе в Украине, Франции, Швейцарии и др. Сибирская язва в нашей республике не регистрируется с 1999 г. Однако в стране насчитывается 587 очагов стацио- нарно неблагополучных по сибирской язве в 103 (из 118) районах, 363 хозяй- ствах, которые подлежат строгому учету. В хозяйствах, где имеются неблаго- получные пункты, проводят профилактическую иммунизацию коров, нетелей и телок случного возраста, независимо от их принадлежности, используя за- регистрированные в Республике Беларусь вакцины, в порядке и в сроки, преду- смотренные инструкциями по их применению. В целях недопущения возникно- вения сибирской язвы на территории нашей страны проводится обследование неблагополучных пунктов и мониторинг за иммунизацией восприимчивого поголовья против сибирской язвы. Постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь и Министерства здраво- охранения Республики Беларусь № 20/52 от 10 апреля 2003 г. утверждены «Ветеринарные и Санитарные правила по профилактике и борьбе с сибир- ской язвой».

Вместе с тем анализ эпизоотической ситуации по сибирской язве живот- ных в республике не исключает вероятности появления новых случаев этой болезни. Такой прогноз мы обосновываем отсутствием в отдельных регионах республики точных данных о местах захоронения сибиреязвенных трупов жи- вотных. Так, например, в Могилевской области не установлены 64 захоронения

трупов, в Минской – 23, в Гомельской – 45 и т. д., кроме того, в ряде случаев на месте бывших почвенных сибиреязвенных очагов произведена застройка отдельных объектов (автозаправка, Дом быта, дороги и т. д.). В связи с этим усложняется мониторинг за специфической и общей профилактикой болезни и, как следствие, возможно возникновение новых случаев заражения.

Напряженной в Беларуси остается ситуация по *инфекционным болезням молодняка* крупного рогатого скота, вызванным условно-патогенной микрофлорой. На долю этих болезней в нашей республике приходится около 80 % неблагополучных пунктов заболевших и павших животных. В 2016 г. первые три места по инфекционным болезням крупного рогатого скота занимали колибактериоз, сальмонеллез и протейная инфекция, которые были зарегистрированы в 191, 103 и 88 неблагополучных пунктах соответственно. В 47 пунктах зарегистрирован псевдомоноз, а в 16 пунктах – стрептококкоз. В естественных условиях иммунная защита молодняка животных первых дней жизни обеспечивается колостральным иммунитетом. Этот механизм защиты реализуется при следующих двух основных условиях. Во-первых, корову следует кормить так, чтобы ее молозиво содержало не менее 50 г/л иммуноглобулинов (плотность – 1050 кг/м³), 3,97–39,6 мкмоль/л витамина А, 1,46–22,40 мкмоль/л каротина. Во-вторых, колостральная защита новорожденного теленка может быть обеспечена при условии правильной выпойки ему биологически полноценного молозива в первый час после рождения. В течение первых 6 ч теленок должен получить 3 л молозива (10 % от массы тела).

Вакцинация коров с целью колостральной защиты новорожденных телят при инфекционных болезнях может быть эффективной также при условии получения биологически полноценного молозива и соблюдении технологии его выпойки. При отсутствии колостральной защиты у новорожденных телят ее можно в некотором роде создать путем применения соответствующих гипериммунных сывороток.

Не улучшается эпизоотическая ситуация в мире и по *бешенству* животных. Абсолютная фатальность (летальность) при этой болезни у животных и людей, несмотря на спорадический характер заболеваемости, придает чрезвычайный характер каждому случаю ее возникновения и ставит эту ветеринарно-медицинскую проблему в разряд первостепенных. Ежегодно в мире погибает от бешенства около 50 тыс. человек (половина из которых – дети) и более 1 млн животных. В Республике Беларусь в 2016 г. заболело 523 животных, в том числе домашних – 281 (53,7 %), диких – 252 (46,3 %). При этом наибольшее количество случаев бешенства зарегистрировано у лис (210 случаев), собак (89), енотов (32), кошек (51) и крупного рогатого скота (139 случаев). В 2017 г. заболеваемость животных бешенством не снижается. За последние 8 лет в нашей республике заболело бешенством и умерло от этой болезни 8 человек. В систему мероприятий по профилактике и ликвидации бешенства у животных и людей должны быть положены, с нашей точки зрения, следующие основные мероприятия (изложенные ниже по степени важности).

1. Интеграция в проведении мероприятий по профилактике бешенства, в том числе специфической, с сопредельными государствами.

2. Специфическая профилактика сельвпатического бешенства путем расширения объема пероральной иммунизации диких плотоядных и улучшения качества используемых для этой цели вакцин. Эти мероприятия являются ведущими в профилактике бешенства и используются во всех странах мира. В республике следует обязательно проводить контроль за поедаемостью вакцин по тетрациклину и определять напряженность иммунитета у диких плотоядных, вакцинированных против бешенства перорально.

3. Уменьшение популяции диких плотоядных, особенно лис, путем их отстрела, обеспечивающее сохранение вида (1-2 особи на 1000 га).

4. Борьба с бездомными собаками и кошками путем создания для последних приютов, стерилизации самок и т. д.

5. Упорядочение содержания домашних собак и кошек, поголовная вакцинация их против бешенства

6. Проведение среди населения разъяснительной работы об опасности заболевания бешенством и мерах его предупреждения. (Все последние случаи заболеваемости и смерти людей от бешенства связаны с отсутствием у них элементарных знаний по профилактике этой болезни.)

7. Профилактическая иммунизация против бешенства лиц, профессиональная деятельность которых связана с высоким риском заражения вирусом бешенства.

8. Требуют совершенствования методы диагностики бешенства, используемые в нашем государстве.

Следует усилить в республике мониторинг эпизоотической ситуации по *туберкулезу крупного рогатого скота*, особенно на комплексах с круглогодичным стойловым содержанием коров. Высокая устойчивость возбудителя туберкулеза во внешней среде (в почве – до 5 лет, в навозе – до 1,5 лет, в воде – до 10 месяцев), множественность факторов передачи возбудителя инфекции (поилки типа «сообщающихся сосудов», соль-лизунец, кормушки для раздачи концентратов при дойке коров, тесный контакт между животными), отсутствие помещений для карантинирования и изоляции больных и реагирующих на туберкулин животных, способствуют возникновению туберкулеза и реализации множественных механизмов передачи его возбудителя в условиях круглогодичного стойлового содержания животных.

Основными мероприятиями по профилактике туберкулеза следует предусмотреть: контроль за ввозом животных из других государств/хозяйств; плановые исследования животных на туберкулез аллергическим методом (2,0 раза в год); изоляцию и сдачу на убой реагирующих на туберкулин коров; профилактическую дезинфекцию, в том числе дезинфекцию емкостей для поения и кормушек 1,0 раз в 3-4 дня; ветеринарно-санитарный осмотр туш и органов при убое животных с целью патологоанатомической диагностики туберкулеза; проведение дератизации, дезинсекции и др. Профилактике туберкулеза будет

способствовать использованию более современных методов диагностики этой болезни.

В Беларуси усложняется ситуация и по *энзоотическому лейкозу крупного рогатого скота*. Кроме экономического ущерба, связанного с выбраковкой инфицированных вирусом лейкоза животных, недополучением мясной и молочной продукции, затратами на проведение диагностических исследований и комплекса мероприятий по профилактике и ликвидации болезни, лейкоз имеет социальную значимость. Все больше появляется доказательств об опасности вируса лейкоза крупного рогатого скота (ВЛ КРС) для человека. Гомологичность геномов ВЛ КРС и Т-клеточного лейкоза человека, экспериментальное воспроизведение ВЛ КРС соответствующей болезни у макаки-резуса и шимпанзе, установление способности ВЛ КРС культивироваться на культурах клеток человека, указывают на определенную опасность его для человека. Отдельные исследователи считают, что ВЛ КРС является причиной рака молочной железы у женщин и мужчин. У 50 % людей с этой патологией находят ВЛ КРС.

Существующая система мероприятий по ликвидации энзоотического лейкоза базируется на выявлении инфицированных животных и удалении их из стада. Выявление (своевременное) инфицированных вирусом лейкоза животных не происходит по объективным (используемые методы диагностики дают возможность выявлять животных только на стадии антителообразования (инкубационный период составляет от 2 месяцев до 6 лет)) и субъективным причинам: отказ от исследования молодняка крупного рогатого скота в неблагополучных хозяйствах, начиная с 6-месячного возраста; отсутствие идентификации животных; погрешности в диагностике болезни. Удаление из стада инфицированных животных часто не происходит из-за несвоевременной изоляции и сдачи на убой (в течение 7 дней) инфицированных животных (коров в независимости от стельности, продуктивности, вместе с приплодом), а также из-за использования телят от инфицированных вирусом лейкоза коров для воспроизводства стада.

Для стабильности ситуации по энзоотическому лейкозу крупного рогатого скота в нашей республике следует вернуться к исследованию в неблагополучных по этой болезни хозяйствах молодняка с 6-месячного возраста, быков-производителей исследовать не менее 2,0 раз в год, используя ПЦР, сперму от реагирующих в ПЦР быков на лейкоз подвергать уничтожению, а для диагностики болезни использовать иммуногенетический метод – ПЦР, позволяющий выявлять животных-инкубаторов.

Классическая чума свиней (КЧС) в 2016–2017 гг. была зарегистрирована в двух странах мира, в том числе и в сопредельном с нашей страной государстве – Латвии. Профилактика болезни в Республике Беларусь базируется на обязательной вакцинации свиней общественного сектора против КЧС.

Неблагополучными по *бруцеллезу* были четыре страны мира, в том числе Бельгия и Финляндия. Мониторинг за бруцеллезом крупного рогатого скота

в нашей республике осуществляется путем серологического исследования сыворотки крови 1,0 раз в 3 года. По этой болезни наша республика благополучна с 1982 г.

Начало третьего тысячелетия характеризуется появлением нового инфекционного заболевания жвачных – болезни, вызванной вирусом Шмалленберг. Эта вирусной природы болезнь была зарегистрирована в 2011 г. в Нидерландах и Германии и клинически проявляется у крупного и мелкого рогатого скота пороками развития плода (гидроцефалия, сколиоз, деформация суставов), мертворожденностью, преждевременными родами, абортами, признаками лихорадки, диареи и резкого снижения продуктивности. Заболеваемость может составлять 20–70 %, а летальность – 20–50 %. Молочная продуктивность может снижаться на 50 %. Возможность заражения человека вирусом Шмалленберг не исключается. В настоящее время болезнь регистрируется во всех странах Европы и России. В 2012 г. в Беларуси диагноз на болезнь, вызванную вирусом Шмалленберг, установлен серологическим методом у нетелей, завезенных из Венгрии. Заражение жвачных происходит вертикальным путем – от матери к плоду, а также при укусах мокрецов рода *Culicoides* (*Culicoides obsoletus*, *Culicoides dewulgi*, *Culicoides pulicaris*), комаров и других жалящих насекомых. Считается, что распространение вируса в Европейских странах связано именно с естественным передвижением кровососущих насекомых из неблагополучных по этой болезни регионов. Не исключается перезаражение при использовании общего инструментария для проведения вакцинации, инъекций, взятия крови и т. д. у больных и здоровых животных. Интенсивность эпизоотического процесса при этой патологии находится на уровне эпизоотии. Диагностика болезни в нашей республике базируется на серологическом исследовании сыворотки крови животных в иммуноферментном анализе (ELISA). Специфических средств лечения больных животных и вакцин для профилактики болезни нет. Система мер по профилактике болезни, вызванной вирусом Шмалленберг, в Европе предусматривает проведение общих профилактических мероприятий, которые включают сбор информации о случаях абортов, пороках развития новорожденных, постоянное клиническое обследование, проведение карантинных мероприятий при покупке животных, соблюдение правил утилизации трупов и др. Зараженных животных в Евросоюзе не планируется выбраковывать, данное мероприятие считается не эффективным для прекращения распространения болезни ввиду нахождения вируса в популяции насекомых. Порядок проводимых мероприятий, связанных с возникновением болезни, до настоящего времени не регламентирован. В Евросоюзе считается, что болезнь не представляет большой угрозы для животноводства и должного внимания этой проблеме не уделяется. В Беларуси осуществляется сероконтроль за импортируемыми животными на наличие в их сыворотке крови антител к вирусу Шмалленберг. Серопозитивные животные выбраковываются и подвергаются убою, а продукты убоя проходят термическую обработку.

Несмотря на сложную эпизоотическую ситуацию по инфекционным болезням животных в мире, в нашей республике она остается стабильной. Так, чума крупного рогатого скота в Беларуси не регистрируется с 1926 г., повальное воспаление легких – с 1928 г., сап лошадей – с 1960 г., болезнь Ньюкасла – с 1980 г., скрепи овец – с 1982 г., ящур – с 1983 г., сибирская язва – с 1999 г.

Должное внимание уделяется предупреждению заноса на территорию нашего государства ранее нерегистрируемых инфекционных болезней животных, в том числе губкообразной энцефалопатии и нодулярного дерматита крупного рогатого скота. Другие инфекционные болезни животных в республике регистрируются в виде спорадических случаев, в отношении их общей и специфической профилактики накоплен значительный опыт, и серьезной угрозы для животноводства республики они в ближайшие годы представлять не будут.

В мире зарегистрированы чума мелкого рогатого скота, губкообразная энцефалопатия и повальное воспаление легких крупного рогатого скота, скрепи и оспа овец, везикулярный стоматит свиней, ящур парнокопытных, сап лошадей, болезнь Ньюкасла и высокопатогенный грипп птиц, классическая чума свиней, бруцеллез животных, сибирская язва и другие, особо опасные болезни, не регистрируемые в Республике Беларусь.

Заключение

Таким образом, в Республике Беларусь не допущено возникновение ряда особо опасных инфекционных болезней животных. Особое внимание следует уделить совершенствованию и выполнению научно обоснованных систем мероприятий по профилактике возникновения губкообразной энцефалопатии, нодулярного дерматита и повального воспаления легких крупного рогатого скота, сибирской язвы, бруцеллеза и ящура животных, классической чумы, эпидемической диареи и везикулярного стоматита свиней, чумы, скрепи и оспы мелкого рогатого скота, сапа лошадей, болезни Ньюкасла и высокопатогенного гриппа птиц, а также предупреждению новых случаев африканской чумы свиней на территории нашей страны.

Литература и источники

1. Latest new on animal diseases. OIE webpage [Electronic recourse]. – Mode of access: http://www.oie/int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI
2. Animal production and health division at FAO [Electronic recourse]. – Mode of access: <http://www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/empres/home.asp>
3. European Centre for Disease prevention and Control [Electronic recourse]. – Mode of access: <http://ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>
4. Эпизоотическая ситуация в мире по особо опасным болезням животных [Электронный ресурс] / Новости Россельхознадзора. – Режим доступа: <http://www.fsvps.ru/fsvps/iac>
5. Отчет о заразных болезнях животных Департамента ветеринарного и продовольственного надзора за 2016 год.

Поступила 29.08.2017 г.

М. В. Горovenko, Т. В. Медведская

**ГЕЛЬМИНТОФАУНА ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА СЕВЕРНОЙ ЗОНЫ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

*УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия
ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь*

Введение

Природно-климатические условия Республики Беларусь являются благоприятными для развития паразитов сельскохозяйственных животных. Умеренно теплое лето, атмосферные осадки и сравнительно мягкая зима благоприятствуют циркуляции и сохранению инвазионного начала во внешней среде. Особенностью северной зоны Беларуси является наличие множества озер, заливных лугов, которые используются в виде пастбищ для сельскохозяйственных животных, а также для заготовки кормов. Вместе с тем данные территории являются местами обитания многих видов промежуточных хозяев гельминтов, что способствует благоприятному завершению жизненных циклов многих видов гельминтов крупного рогатого скота [1, 5].

Важным этапом передачи инвазии является нахождение выделенных яиц и личинок гельминтов в элементах внешней среды. Здесь уже весьма значительна роль комплекса природных факторов. Для геогельминтов – это температура, необходимая для достижения яйцами и личинками инвазионной стадии, влажность почвы, аэрация почвы и воды. То же необходимо для сохранения жизнедеятельности инвазионных яиц и личинок, а также яиц, попавших во внешнюю среду уже инвазионными, и для контактных гельминтозов (энтеробиоза) [2, 3].

Как отмечено А. М. Субботиным (2009), широкое распространение кишечных паразитов среди животных и людей способствует интенсивному обсеменению объектов окружающей среды инвазионным материалом, что, в свою очередь, создает условия для интенсивного перезаражения [5].

В связи с этим определение закономерностей формирования гельминтофауны желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота является актуальной задачей и имеет научное и практическое значение [2–4].

Цель работы – установить закономерности формирования гельминтофауны желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота в условиях северной зоны Беларуси.

В соответствии с этим поставлены задачи: 1) выявить закономерности формирования гельминтофауны желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота; 2) определить видовой состав стронгилят желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований

Изучение гельминтофауны желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота проводилось в условиях Витебской области. Животные содержались в типовых помещениях, а в пастбищный период выпасались на культурных пастбищах.

Отбирались пробы: не менее 30 проб фекалий от каждой возрастной группы крупного рогатого скота (телят 1–3-, 3–6-месячного возраста, молодняка 6–18-месячного возраста, нетелей и коров).

Встречаемость гельминтов желудочно-кишечного тракта у крупного рогатого скота определялась путем исследования проб фекалий общепринятыми в гельминтологии флотационным и седиментационным методами.

Результаты и их обсуждение

Мониторинг закономерностей формирования гельминтофауны и таксономический анализ паразитарной системы желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота проводили в пяти географически разбросанных хозяйствах северной зоны Беларуси.

Установлено, что таксономическая структура представлена 16 видами гельминтов, относящихся к 2 типам, 3 классам, 7 отрядам, 9 семействам и 15 родам. Класс трематод представлен 2 видами (*Fasciola hepatica*, *Liorchis scotiae*), цестод – 1 (*Moniezia benedeni*), нематод – 13 (*Ostertagia ostertagi*, *Trichostrongylus columbriformis*, *Haemonchus contortus*, *Cooperia oncophora*, *Nematodirus helvetianus*, *Nematodirus filicollis*, *Oesophagostomum venulosum*, *Oesophagostomum radiatum*, *Bunostomum trigonocephalum*, *Chabertia ovina*, *Capillaria (Aonchotheca) bovis*, *Neoascaris vitulorum*, *Strongyloides longus bovis*) видами.

Отряды нематод составили 57,14 % от общего числа, семейства – 66,67 %, роды – 80,0 % и виды – 81,25 %. Исходя из этого, паразитарную систему крупного рогатого скота северной зоны Беларуси можно охарактеризовать как нематодозную.

Установлено, что встречаемость паразитарной инвазии зависит от сезона года. В зимний и весенний период года стронгилята пищеварительного тракта у телят 1–6-месячного возраста увеличивались еще на 15,4 %. Встречаемость стронгилят у молодняка крупного рогатого скота 6–12-месячного возраста составляла 11,8–49,1%, у нетелей – 15,3–64,4% и у коров – 17,3–71,3%. При этом максимальным данный показатель был в летне-осенний период года.

Встречаемость стронгилоидесов у крупного рогатого скота достигала 66,4 %, при этом максимальным этот показатель был летом у телят 1–3-месячного возраста. Интенсивность выделения яиц стронгилоидесов у крупного рогатого скота составляла 11,6–121,9 яиц/г фекалий. Более высокой она была у молодняка до 6-месячного возраста.

Встречаемость фасциол в условиях северной зоны Беларуси достигала 73,8 %. Максимум она достигала весной и зимой у взрослых животных. Интенсивность выделения яиц составляла 32,4–134,7 яиц/г фекалий.

Высокой встречаемость парамфистоматид была у взрослых животных и достигала 46,3 % с интенсивностью выделения яиц до 56,8 яиц/г фекалий.

Встречаемость мониезий у телят 6–12-месячного возраста отмечалась до 18,5 %. У взрослых животных данный паразит встречался в единичных случаях. В осенний период интенсивность выделения яиц мониезий достигала 67,8 яиц/г фекалий.

Максимальная встречаемость капиллярий отмечалась в осенний период у молодняка 6–12-месячного возраста – $28,6 \pm 1,83$ % с интенсивностью выделения яиц до $117,2 \pm 9,12$ яиц/г фекалий.

Неоаскарисы встречались только у животных 1–18-месячного возраста. Наибольшего значения этот показатель достигал в весенний период года у телят 1–3-месячного возраста – $17,2 \pm 1,38$ % с интенсивностью выделения яиц до 138,6 яиц/г фекалий.

Установлено, что в условиях северной зоны Беларуси у крупного рогатого скота гельминты часто паразитируют в ассоциации, что усложняет проведение мероприятий по борьбе с ними. У телят встречаются паразитарные системы, включающие от двух до трех видов гельминтов. Из 1218 исследованных проб фекалий от телят 1–6-месячного возраста в 50,3 % были обнаружены яйца паразитов. При этом у 44,7 % инвазированных животных отмечалась паразитарная система, включающая один вид гельминтов. Стронгилята желудочно-кишечного тракта составляли 13,6 %, стронгилоидесы – 26,5, мониезии – 0,7, капиллярии – 0,3, неоаскарисы – 3,6 %. Два вида паразитов отмечены в паразитарной системе у 42,4 % телят, при этом чаще регистрировались стронгилята желудочно-кишечного тракта + стронгилоидесы – у 25,7 %. Три вида гельминтов выявлены у 10,7 %, а паразитарная система из четырех видов и более отмечена у 2,2 % телят.

При исследовании фекалий от молодняка крупного рогатого скота в возрасте 6–18 месяцев (1213 голов) у 62,0 % инвазированных животных наблюдалась паразитарная система, включающая один вид гельминтов. Из них стронгилята желудочно-кишечного тракта регистрировались у 33,5 %, капиллярии – у 18,3, мониезии – у 5,8, парамфистоматиды – у 3,4, неоаскарисы – у 0,7, фасциолы – у 0,3 % животных. По два вида гельминтов в паразитарной системе отмечалось у 27,6 % молодняка, три вида – у 9,6, четыре вида и более – у 1,2 % молодняка.

Из обследованных 617 голов нетелей гельминты выявлены у 66,3 %. Паразитарная система, включающая один вид гельминтов, установлена у 54,7 %. Из них: стронгилята желудочно-кишечного тракта – у 27,6 %, фасциолы – у 21,0, парамфистоматиды – у 3,2, стронгилоидесы – у 1,2, мониезии – у 1,0, капиллярии – у 0,7 % животных. У 33,9 % нетелей отмечено по два вида гельминтов в паразитарной системе, три вида – у 9,8, четыре вида и более – у 1,6 % животных.

Из 624 обследованных коров у 64,7 % обнаружены гельминты желудочно-кишечного тракта. У 35,4 % из них отмечена паразитарная система, включающая

один вид гельминтов, в том числе: стронгилят желудочно-кишечного тракта – у 26,2 %, фасциол – у 9,2 % животных. Паразитарная система из двух видов гельминтов встречалась у 55,7 % коров, из трех видов – у 6,4 % коров. Паразитарная система, включающая четыре вида гельминтов, наблюдалась у 2,5 % животных.

Определен видовой состав стронгилят желудочно-кишечного тракта, паразитирующих у крупного рогатого скота.

Анализ видового состава стронгилят желудочно-кишечного тракта, паразитирующих у крупного рогатого скота, показал, что он зависит от возраста животных. У всех возрастных групп животных наиболее часто обнаруживаются *Trichostrongylus columbriformis* – до 39,6 %, *Cooperia oncophora* – до 14,1, *Oesophagostomum radiatum* – до 13,4 %.

Заключение

Паразитарная система желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота в условиях северной зоны Республики Беларусь представлена: стронгилятами желудочно-кишечного тракта – 27,9 %, фасциолами – 16,0, парамфистоматидами – 8,7, стронгилоидесами – 15,5, мониезиями – 4,3, капилляриями – 7,5, неоаскаридами – 5,0 %. Степень встречаемости и интенсивности выделения яиц зависит от сезона года и возраста животных. Паразитарная система, включающая двух паразитов и более, составляет 50,8 % крупного рогатого скота, в том числе: два паразита – у 39,9 %, три – у 9,1, четыре и более – у 1,9 %. Стронгиляты желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота исследуемой зоны представлены 11 видами, среди которых чаще всего регистрируются: *Trichostrongylus columbriformis* – до 39,6 %, *Cooperia oncophora* – до 14,1, *Oesophagostomum radiatum* – до 13,4 %.

Литература

1. Горovenko, М. В. Экологическая оценка источников водоснабжения вокруг животноводческих объектов в летне-осенний период / М. В. Горovenko (М. В. Медведская) // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сб. науч. тр. – Горки, 2013. – Вып. 16, ч. 2. – С. 235–241.
2. Горovenko, М. В. Разработка эффективного средства для санации животноводческих объектов / М. В. Горovenko // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: зб. наук. праць. – Харків, 2013. – Вып. 27, ч. 2. – С. 334–339.
3. Субботин, А. М. Гельминтологическая и санитарная оценка объектов животноводства зоны Белорусского Поозерья / А. М. Субботин, М. В. Горovenko // Вестн. Саратов. гос. агр. ун-та им. Н. И. Вавилова. – Саратов, 2013. – С. 42–44.
4. Субботин, А. М. Эпизоотологическая ситуация по паразитозам крупного рогатого скота в северной зоне Республики Беларусь / А. М. Субботин, М. В. Горovenko // Уч. зап. УО «Витебская гос. акад. вет. медицины» ; ред. А. И. Ятусевич [и др.]. – Витебск, 2014. – Т. 50, вып. 2, ч. 1. – С. 113–116.
5. Субботин, А. М. Профилактика гельминтозов желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота северной зоны Республики Беларусь / А. М. Субботин, М. В. Горovenko // Уч. зап. УО «Витебская гос. акад. вет. медицины» ; ред. А. И. Ятусевич [и др.]. – Витебск, 2014. – Т. 50, вып. 1, ч. 1. – С. 65–68.

Поступила 24.05.2017 г.

Т. Б. Никоненко

ВИРУСНО-ГЕЛЬМИНТОЗНЫЕ АССОЦИАЦИИ ПРИ ГАСТРОЭНТЕРИТАХ У СОБАК

*ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет»,
г. Барнаул, Россия*

Введение

Среди вирусных патогенов, вызывающих гастроэнтериты у собак, главная роль принадлежит парвовирусу и коронавирусу. Ретроспективный анализ учетных данных государственных ветеринарных клиник Иркутской области (Россия) показал, что ассоциации парвовируса с коронавирусом в общем нозо-профиле ассоциированных вирусных инфекций собак преобладают и составляют 62,5 % удельного веса [4]. Сочетанная корона-парвовирусная инфекция представляет наибольшую опасность для здоровья собак, в результате которой гастроэнтериты у животных протекают наиболее тяжело с сильно выраженными клиническими признаками, при этом нередко заболевание заканчивается летальным исходом. В условиях питомников и приютов риск заражения собак увеличивается, чему способствует их скученное содержание. К фактору риска заболеваемости относятся щенки в возрасте до 5 месяцев [2].

Усиление тяжести инфекционного процесса и увеличение летальности при ассоциированных болезнях обусловлено присутствием в организме больного животного и других патогенов, в том числе гельминтов [3]. Глистная инвазия резко снижает иммунологическую резистентность макроорганизма, а вызываемый гельминтами сложный комплекс патологических явлений со стороны кишечника не всегда распознается и учитывается в диагностике вирусных инфекций [1].

Цель работы – выявить случаи вирусно-гельминтозных ассоциаций при гастроэнтеритах у собак на примере питомника К-9 в г. Иркутске (Россия).

Материалы и методы исследований

Работа выполнена на кафедре микробиологии, эпизоотологии, паразитологии и ВСЭ ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет» (г. Барнаул, Россия). Исследования проведены на базе питомника К-9 в г. Иркутске в марте–апреле 2017 г. В этот период наблюдался наибольший пик заболеваемости собак вирусными гастроэнтеритами, вызываемыми парво- и коронавирусами.

Наблюдению были подвергнуты беспородные щенки в возрасте 2–3 месяцев. Всего было исследовано 35 голов, из них 20 собак с гастроэнтеритами (опытная

группа) и 15 голов – здоровые собаки (контрольная группа). Диагноз ставили на основании клинических признаков, экспресс- и лабораторной диагностики. Для постановки диагноза на гастроэнтеральные вирусные инфекции у животных каждой группы брали смывы с прямой кишки для иммунохроматографического анализа (ИХА) и для лабораторных исследований методами иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР). В условиях питомника полученный биоматериал подвергали прямому одношаговому исследованию, основанному на ИХА с использованием тест-кассет VetExpert CPV/CCV Ag (BioNoteInc., Корея) с одновременным обнаружением и дифференциацией антигенов парво- и коронавируса собак. Положительные результаты экспресс-диагностики в ИХА были подтверждены исследованиями ФГБУ «Иркутская межобластная ветеринарная лаборатория» в ИФА и ПЦР. Наличие антигена парвовируса определяли с помощью набора для выявления антигенов парвовирусного энтерита собак, вирусного энтерита норек и панлейкопении кошек ИФА. Для диагностики коронавироза использовали тест-систему «КОРОНАВИР» с целью выявления и идентификации коронавирусов кошек и собак методом ПЦР. Параллельно с вирусологическими исследованиями пробы фекалий животных двух групп подвергали прижизненной диагностике на гельминтозы. Копрологические исследования проводили методом флотации по Котельникову–Хренову. Интенсивность инвазии определяли по общепринятой методике.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с применением общепринятых методов описательной статистики и непараметрических методов исследования зависимостей по коэффициентам ассоциации Юла (K_{ac}) и контингенции Пирсона ($K_{кон}$).

Результаты и их обсуждение

В наибольший пик заболеваемости собак гастроэнтеритами в питомнике К-9 по результатам диагностических исследований составлен нозологический профиль вирусно-гельминтозной патологии собак (см. таблицу).

В контрольной группе у здоровых собак наличие вирусов и гельминтов не выявлено. В совокупности больных гастроэнтеритами собак опытной группы диагностированы парвовироз, коронавироз и токсокароз (*Toxocara canis*), которые протекали в четырех вариантах ассоциаций.

Установлено, что у больных собак вирусные гастроэнтериты протекали, как в форме моноинфекций, так и в форме ассоциаций, с удельным весом в общем нозопрофиле 45,0 и 55,0 % соответственно. Моноинфекции представляли две нозологические формы: парвовироз и коронавироз, среди которых преобладала инфекция, вызванная парвовирусом (66,3 %). Группа ассоциированных инфекций включала четыре нозоформы: парвовироз + коронавироз, парвовироз + токсокароз, коронавироз + токсокароз и парвовироз + коронавироз + токсокароз, среди которых доля вирусно-гельминтозной ассоциации парвовироза с токсокарозом значительно преобладала (36,3 %).

**Нозологический профиль вирусно-гельминтозной патологии собак
в питомнике К-9 март–апрель 2017 г.**

Нозологическая форма	Кобели, голов	Суки, голов	Всего боль- ных собак, голов	Удельный вес в нозопрофиле по группе, %	Удельный вес в общем нозопрофиле, %
<i>Группа 1. Моноинфекции</i>					
Парвовироз	4	2	6	66,3	30
Коронавироз	2	1	3	33,3	15
<i>n = 2</i>	6	3	9	100	45
<i>Группа 2. Ассоциированные инфекции</i>					
Парвовироз + коронавироз	1	2	3	27,3	15
Парвовироз + токсокароз	1	3	4	36,3	20
Коронавироз + токсокароз	1	1	2	18,2	10
Парвовироз + коронави- роз + токсокароз	1	1	2	18,2	10
<i>n = 4</i>	4	7	11	100	55
<i>Общая заболеваемость</i>					
<i>N = 6</i>	10	10	20	–	100

Среди общей заболеваемости частота случаев ассоциированных инфекций больше, чем моноинфекций с разницей в 10,0 %. Если рассматривать общую заболеваемость в разрезе отдельных нозологических форм, то уровень заболеваемости парвовирозом, как моноинфекции, выше пяти остальных, что составляло 30,0 %.

Выявленные моно- и смешанные инфекции у больных сук и кобелей протекали неоднородно. Из таблицы видно, что у кобелей моноинфекции случались в 2,0 раза чаще, чем у сук. Примерно в той же пропорции частота проявления ассоциированных инфекций наблюдалась сильнее у сук, чем у кобелей. При этом у сук преобладала вирусно-гельминтозная ассоциация парвовироз + токсокароз.

При изучении зависимости между ассоциациями парвовироза с коронавирозом и токсокарозом определена средняя статистическая связь, где коэффициент ассоциации колебался в пределах $0,5 < K_{ac} < 0,64$, а коэффициент контингенции $0,3 < K_{кон} < 0,4$. Коэффициенты ассоциации и контингенции коронавироза с токсокарозом составили: $K_{ac} = 0,2$ и $K_{кон} = 0,1$, что характерно для слабой статистической связи. Однако критические значения коэффициентов ассоциации и контингенции при уровне значимости $p < 0,05$ составляют $K_{ac\ критич} = 0,5$ и $K_{кон\ критич} = 0,3$, поэтому нельзя утверждать о статистической достоверности ассоциации коронавироза с токсокарозом.

Заключение

Проведенные исследования показали, что вирусные гастроэнтериты у собак могут протекать как при моноинфекциях парвовироза и коронавироза, так и в сочетанной корона- и парвовирусной инфекции, при этом они нередко осложняются инвазией *Toxocara canis*.

Увеличение частоты случаев парвовируса при наличии токсокароза и коронавируса у больных гастроэнтеритами собак, очевидно, связано с иммуносупрессией, индуцированной парвовирусом. При этом повышается восприимчивость организма к токсокарозу и коронавирусу.

Наряду с этим имеются данные о том, что токсокароз у собак приводит к иммуносупрессии, что, в свою очередь, может спровоцировать активацию коронавирусов и парвовирусов с последующей вирусемией.

Литература

1. Костылева, О. А. Энтероколиты собак и кошек различной этиологии / О. А. Костылева // Вестн. Алтайского гос. агр. ун-та. – 2006. – № 2. – С. 43–45.
2. Лизвинский, Ю. Сочетанная корона- и парвовирусная инфекция у щенков – потенциальная опасность для питомников / Ю. Лизвинский, Н. Гусева // Мелкие домашние и дикие животные : рос. вет. журн. – 2015. – № 6. – С. 49–51.
3. Никоненко, Т. Б. Ассоциации микроорганизмов при вирусных инфекциях собак (обзор) / Т. Б. Никоненко, А. С. Батомункуев, П. И. Барышников // Аграрная наука – сельскому хозяйству. Семинар – круглый стол 8. Актуальные проблемы ветеринарной медицины : материалы XII Междунар. науч.- практ. конф., Барнаул, 7–8 февр. 2017 г. – Барнаул : РИО Алтайского ГАУ, 2017. – Кн. 3. – С. 287–290.
4. Никоненко, Т. Б. Инцидентность ассоциированных вирусных болезней собак в городе Черемхово Иркутской области // Вестн. молодежной науки Алтайского гос. агр. ун-та : сб. науч. тр. – Барнаул : РИО Алтайского ГАУ, 2017. – № 1. – С. 200–203.

Поступила 29.06.2017 г.

УДК 619:616.002.9:614.31:637.5'63(477.74)

М. С. Химич, О. Т. Пивень

ГЕЛЬМИНТОЗЫ КАК ОДНА ИЗ ВЕДУЩИХ ПРИЧИН СНИЖЕНИЯ КАЧЕСТВА БАРАНИНЫ В ОДЕССКОЙ ОБЛАСТИ

Одесский государственный аграрный университет, г. Одесса, Украина

Введение

Сегодня во всем мире наблюдается тенденция относительно увеличения поголовья овец, что связано с ростом спроса на баранину, которая характеризуется низким содержанием холестерина. В то же время в Украине количество животных данного вида, наоборот, с каждым годом уменьшается. Однако климатические условия и этнические традиции Одесской области являются благоприятными для прогресса овцеводства, и отрасль активно развивается в регионе. Только ее рост значительно замедляют гельминтозы, которые наносят значительный экономический ущерб, а также не позволяют украинскому продукту быть безопасным, качественным и, следовательно, конкурентоспособным на европейском рынке [2, 4].

Данные относительно качества мяса инвазированных животных свидетельствуют о его более низком качестве по сравнению с мясом от здоровых животных. Так, установлено снижение содержания белка, жира, микроэлементов (особенно кальция), витаминов (А, Е, В₁, В₂) и энергетической ценности такого мяса. Существуют данные, свидетельствующие о наиболее существенных отклонениях в химическом составе мяса овец при легочных нематодозах, эхинококкозе, фасциолезе [1, 3, 5].

Кроме того, баранина, полученная от инвазированных овец, характеризуется нарушением процессов созревания мяса и сокращением сроков его хранения [1].

Исходя из вышеизложенного, мясо от инвазированных животных является более низким по качеству, что следует учитывать при проведении ветеринарно-санитарной экспертизы.

Материалы и методы исследований

Материалом наших исследований стала отчетность по вопросам ветеринарной медицины (Формы № 2а-вет и № 5-вет) Арцызского, Беляевского, Болградского, Раздельнянского, Саратовского, Тарутинского и Татарбунарского районов Одесской области за 2014–2016 гг. и туши овец.

Исследования проводили в условиях кафедры ветеринарной гигиены, санитарии и экспертизы Одесского государственного аграрного университета и лабораторий ветеринарно-санитарной экспертизы на рынках указанных районов.

Отчетную документацию обрабатывали статистически, а исследование органолептических (в том числе проба варки) и физико-химических (значение рН, реакция на пероксидазу, реакция с сернокислой медью, формольная реакция) показателей мяса проводили в соответствии с Правилами предубойного ветеринарного осмотра животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов (Киев, 2002).

Результаты и их обсуждение

Анализ полученных результатов ветеринарной отчетности свидетельствует о значительном поражении овец, поступающих на убой в Одесской области, инвазионными заболеваниями. Наиболее часто при послеубойном осмотре и ветеринарно-санитарной экспертизе туш овец на рынках регистрировали мониезиоз, эхинококкоз и мониезиезно-эхинококковую инвазию (табл. 1).

Так, у ягнят в возрасте 4–8 месяцев мониезии были выявлены у 15,9 %. Наибольшее количество пораженных туш зафиксировано в южных районах области.

Поражение мониезиозом у взрослых овец определяли реже, чем у молодняка – инвазия зафиксирована у 778 туш, что составило 7,4 % относительно общего числа исследованных.

**Таблица 1. Частота выявления мониезиоза и эхинококкоза
во время проведения послеубойной ветеринарно-санитарной экспертизы овец,
2014–2016 гг. (n = 23324)**

№ п/п	Район	Количество исследованных туш	Выявлено инвазированных животных					
			Мониезиоз		Эхинококкоз		Мониезиоз + эхинококкоз	
			туш	%	туш	%	туш	%
Ягнята в возрасте 4–8 месяцев								
1.	Арцызский	1693	293	17,03	0	0	0	0
2.	Болградский	1871	410	21,9	0	0	0	0
3.	Беляевский	1034	119	11,5	0	0	0	0
4.	Раздельнянский	1412	133	9,4	0	0	0	0
5.	Тарутинский	1719	184	10,7	0	0	0	0
6.	Татарбунарский	1918	385	20,1	0	0	0	0
7.	Саратский	3021	482	16,0	0	0	0	0
Итого:		12 614	2006	15,9	0	0	0	0
Взрослые овцы старше 1-го года								
1.	Арцызский	1353	97	7,2	151	11,2	153	11,3
2.	Беляевский	1203	83	6,9	65	5,4	67	5,6
3.	Болградский	1489	115	7,7	204	13,7	125	8,4
4.	Раздельнянский	1263	90	7,1	97	7,7	72	5,7
5.	Тарутинский	1195	85	7,1	133	11,1	55	4,6
6.	Татарбунарский	1803	143	7,9	218	12,1	141	7,8
7.	Саратский	2404	175	7,3	243	10,1	174	7,2
Итого:		10 710	788	7,4	1111	10,4	787	7,3
Всего:		23 324	2794	12,0	1111	4,8	787	3,4

Также у взрослого поголовья выявляли поражение печени эхинококкозом (эхинококковые пузыри различного диаметра). Общее количество случаев – 1111 туш, что составило 10,4 % относительно общего количества туш, прошедших послеубойную ветеринарно-санитарную экспертизу.

Ассоциированную мониезиозно-эхинококковую инвазию регистрировали только у взрослых животных. Количество пораженных полиинвазией туш – 787, что составило к 7,3 % относительно общего числа туш, прошедших послеубойный ветеринарно-санитарный контроль.

В целом по области из 23 324 туш, прошедших ветеринарно-санитарный контроль за период с 2014 по 2016 г., мониезиоз выявлен у 2794 туш (12,0 %), эхинококкоз – у 1111 туш (4,8 %), мониезиозно-эхинококковая ассоциация – у 787 туш (3,4 %).

Результаты определения свежести (доброкачественности) мяса инвазированных овец в зависимости от инвазии и методов исследования представлены в табл. 2.

Таблица 2. Сравнительная оценка результатов определения свежести (качества) туш в зависимости от методов исследования (n = 75)

Выявленная инвазия	Количество исследованных туш	Органолептические исследования						Физико-химические исследования					
		свежие		сомнительной свежести		несвежие		свежие		сомнительной свежести		несвежие	
		туш	%	туш	%	туш	%	туш	%	туш	%	туш	%
Мониезидоз	25	25	100,0	—	—	—	—	23	92,0	2	8,0	—	—
Эхинококкоз	25	25	100,0	—	—	—	—	22	88,0	3	12,0	—	—
Мониезидоз + эхинококкоз	25	23	92,0	2	8,0	—	—	19	76,0	6	24,0	—	—
<i>Всего:</i>	75	73	97,33	2	2,67	—	—	64	85,33	11	14,67	—	—

Как видно, полученные результаты определения свежести значительно отличаются в зависимости от метода исследований.

Так, по результатам органолептических исследований к категории свежих были отнесены 97,33 % всех исследованных туш, к категории сомнительной свежести – 2,67 % туш, несвежих туш не выявлено. При этом мясо овец, пораженных моноинвазией (мониезидозом или эхинококкозом), по результатам исследований соответствовало свежему в 100 % случаев, а овец с асоциативной инвазией (мониезидоз + эхинококкоз) – в 97,33 %.

В то же время, по результатам физико-химических исследований и микроскопии, к категории свежих отнесено всего 85,33 % исследованных туш овец. Причем мясо овец, пораженных мониезидозом, соответствовало свежему только в 92,0 % случаев, овец, пораженных эхинококкозом, – в 88,0, а овец с асоциативной инвазией (мониезидоз + эхинококкоз) – в 76,0 % случаев.

Следует отметить, что наиболее сильное расхождение в результатах при определении свежести органолептическими и физико-химическими методами зафиксировано при полиинвазии – 92,0 % против 76,0 % соответственно.

Исходя из полученных данных, можно утверждать, что при проведении ветеринарно-санитарной экспертизы мяса, полученного от овец, инвазированных как моно-, так и полиинвазиями, окончательное решение в отношении его доброкачественности (свежести) можно принимать только по результатам физико-химических исследований.

Заключение

Исследованиями установлено, что в Одесской области за период с 2014 по 2016 г. по результатам ветеринарно-санитарного контроля продуктов убоя овец мониезидоз выявлен у 12,0 %, эхинококкоз – у 4,8, мониезидозно-эхинококковая ассоциация – у 3,4 % исследованных туш.

При проведении ветеринарно-санитарной экспертизы мяса, полученного от инвазированных овец, окончательное решение в отношении доброкачественности (свежести) можно принимать только по результатам физико-химических исследований.

Литература

1. Ибрахим, М. И. Влияние гельминтозов на качество мяса овец / М. И. Ибрахим, И. Г. Глаздин, Н. Ю. Сысоева // Рос. паразитол. журн. – М., 2013. – № 2. – С. 54–57.
2. Овцеводство Украины – проблемы и перспективы / Ю. В. Вдовиченко [и др.] // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2013. – № 2. – С. 75–80.
3. Півень, О. Т. Вплив ураження овець монієзіями на якість баранини / О. Т. Півень, М. В. Богач // Вет. Медицина : зб. наук. праць. – Харків, 2017. – Вип. 103. – С. 263–265.
4. Яценко, І. В. Сучасний стан та тенденції розвитку виробництва продукції вівчарства у світі / І. В. Яценко, В. Я. Бінкевич // Вісн. Сумського нац. агр. ун-ту. – Суми, 2015. – Вип. 1 (36). – С. 49–54.
5. Impact of Echinococcosis on Quality of Sheep Meat in the South Eastern Kazakhstan / Z. Valieva [et. al.] // Asian-Australasian J. Anim. Sci. – 2014. – № 27 (3). – P. 391–397.

Поступила 30.06.2017 г.

УДК 619:615.37:616.99:636.22/.28.053.2:612.017.11/.12

В. П. Василькова

ОЦЕНКА ПРИМЕНЕНИЯ ТЕЛЯТАМ, ИНВАЗИРОВАННЫМ ПАЗАРИТАМИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА, ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ

*УП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышеселеского»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Альтернативой применению химиофармацевтических средств для профилактики и терапии паразитозов могут служить препараты, повышающие уровень иммунитета, что позволит снизить патогенное воздействие паразита на организм хозяина.

Особенностью иммуностимулирующих препаратов является их высокая биологическая активность, направленная на повышение иммунитета и обменных процессов у животных, в результате чего организм животного самостоятельно избавляется от паразитов и инфекционных агентов. Кроме этого иммуностимуляторы не оказывают побочного действия, не накапливаются в органах и тканях животного, не вызывают привыкания со стороны паразитов и не загрязняют окружающую среду [3].

Цель исследования – определить влияние иммуностимуляторов «Альвеозан» и «Иммуновет», разработанных на основе бактериальных липополисахаридов *Bac. alvei* и *Bac. subtilis* соответственно, на иммунный статус телят, инвазированных ассоциациями паразитов желудочно-кишечного тракта.

Материалы и методы исследований

Для определения влияния препаратов альвеозан и иммуновет на иммунную систему телят, инвазированных паразитами желудочно-кишечного тракта, проводили исследования крови методами: Д. К. Новикова и В. И. Новиковой в модификации А. Ф. Могиленко – для определения Т- и В-лимфоцитов; Ю. А. Гриневич и А. Н. Алферова (1981) – для определения уровня циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови; соотношение белковых фракций определяли с помощью диагностического набора для электрофоретического разделения белков сыворотки крови на агарозе «CORMAY GEL PROTEIN 100».

Исследование фекалий для контроля уровня инвазии телят паразитами желудочно-кишечного тракта проводили методами: Г. А. Котельникова – В. М. Хренова (1974) – для обнаружения яиц гельминтов и ооцист эймерий; А. М. Петрова и В. Г. Гагарина (1953) – для определения родового состава трихостронгилид (культивирование личинок); Бермана–Орлова (1984) – для выделения личинок из проб фекалий.

В опытах принимало участие 53 теленка 3–4-месячного возраста.

Статистический анализ полученных данных проводили с помощью прикладных программ Microsoft Excel.

Дозировка и кратность применения иммуностимуляторов была идентичной и составляла 10 мкг/кг живой массы животного (внутримышечно) один раз в сутки в течение трех дней с интервалом 24 ч.

Результаты и их обсуждение

Исходное заражение телят, которым применяли альвеозан, составило стронгилоидами 100 %, трихостронгилидами – 57,14 %, эймериями – 71,42 %; которым применяли иммуновет – 100 %, 30,3 %, 100 % соответственно.

При применении иммуностимуляторов произошло повышение естественной резистентности организма телят, что привело к снижению уровня инвазии паразитами желудочно-кишечного тракта.

Экстенсэффективность альвеозана при стронгилоидозе и трихостронгилидозах составила 42,86 % и 65,20 %, при эймериозах – 50,0 %.

Экстенсэффективность иммуновета при стронгилоидозе – 76,70 %, при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта – 65,0%, при эймериозе – 50,0%.

Наименее устойчивыми после применения альвеозана и иммуновета оказались личинки гемонхов и трихостронгилов, а наиболее устойчивыми – личинки кооперий.

Зараженность телят группы контроля на протяжении всего периода исследований оставалась на высоком уровне: стронгилоидами – 85,71–100 %, трихостронгилидами – 42,85–71,43 %, эймериями – 57,14–85,71 %.

При ассоциативных паразитозах желудочно-кишечного тракта телят установлено значительное угнетение иммунной системы, проявляющееся в низком

содержании розеткообразующих Т- и В- лимфоцитов, повышенном образовании циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), низком уровне β - и γ -глобулинов, высоком уровне α_1 -и α_2 -глобулинов в сыворотке крови [1, 2, 4].

Введение иммуностимулятора «Альвеозан» инвазированным телятам способствует активации у них клеточного иммунитета, проявляющегося в увеличении уровня Т- и В-лимфоцитов по отношению к инвазированным телятам в 1,94 раза ($P < 0,001$) и в 2,30 раза ($P < 0,001$) соответственно.

Концентрация ЦИК в сыворотке крови интактных телят составила 61,71–88,0 ед. опт. пл., у инвазированных паразитами она была значительно выше – 107,42–153,4 ед. опт. пл. Минимальное снижение данных комплексов произошло через 14 дней после введения альвеозана, при этом уровень циркулирующих иммунных комплексов составил 60,33 ед. опт. пл., что на 57,41 % ($P < 0,001$) ниже группы инвазированных животных. Содержание циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови обработанных животных к концу проводимого исследования достигло уровня интактных телят, что обуславливает благоприятный прогноз в лечении.

Содержание альбумина в сыворотке крови интактных телят составило 47,12–51,46 %, у инвазированных значительно меньше – 40,50–42,86 %. Через 14 дней после введения альвеозана его содержание по отношению к инвазированным животным увеличилось на 15,25 % ($P < 0,05$). Однако уровни неинвазированных животных достигнуто не было, что говорит о глубоких и стойких поражениях в иммунной системе телят, инвазированных ассоциациями паразитов, но в то же время наблюдалась тенденция в сторону общего улучшения состояния здоровья животных.

Через 14 дней после применения альвеозана количество α_1 -глобулинов по отношению к инвазированным животным уменьшилось в 1,21 раза ($P < 0,05$), но к уровню интактных телят показатели не приблизились.

У свободных от паразитов телят количество α_2 -глобулинов составило 8,67–9,58 %, у инвазированных телят – 10,78–11,26 %. Максимальное снижение данных глобулинов по отношению к показателям инвазированных животных произошло через 28 дней после введения альвеозана – на 11,92 % ($P < 0,001$). В этот период был достигнут уровень телят, свободных от паразитов желудочно-кишечного тракта.

Уровень β -глобулинов у интактных телят находился в пределах 17,30–18,57 %, у инвазированных телят – в пределах 11,25–12,78 %. Через 28 дней после введения альвеозана количество β -глобулинов увеличилось по отношению к контролю на 47,18 % ($P < 0,001$), тем самым был достигнут уровень неинвазированных животных.

Через 62 дня после введения телятам альвеозана содержание в сыворотке крови γ -глобулинов увеличилось в 1,27 раза ($P < 0,01$) по отношению к инвазированным животным, тем самым полученные показатели достигли уровня интактных телят – 23,75–25,80 %.

В опытах по применению препарата «Иммуновет» выявлены существенные положительные сдвиги в Т- и В-системах клеточного иммунитета, циркулирующих иммунных комплексах и белковых фракциях, обусловленные иммуностимулирующим эффектом препарата.

Через 14 дней после его применения телятам, инвазированным паразитами желудочно-кишечного тракта, количество розеткообразующих Т-лимфоцитов составило $55,86 \pm 1,88 \%$, что на $19,41 \%$ ($P < 0,01$) выше уровня, полученного от инвазированных животных; В-лимфоцитов – $36,35 \pm 3,08 \%$, что на $50,89 \%$ ($P < 0,05$) выше показателей, полученных от инвазированных телят.

Количество циркулирующих иммунных комплексов снизилось на 30-й день исследования и составило $15,31 \pm 2,06$ ед. опт. пл., что в $1,69$ раза ($P < 0,01$) ниже показателей группы инвазированных животных. Полученные результаты свидетельствует о снижении аллергических и аутоиммунных процессов, вызванных жизнедеятельностью паразитов в организме телят.

При изучении динамики белка и белковых фракций на фоне применения иммуностимулирующего препарата были также выявлены достоверные изменения. К концу проводимого эксперимента уровень α_1 - и α_2 -глобулинов составил $5,25 \pm 0,34 \%$ и $7,28 \pm 0,34 \%$ соответственно, что в $2,19$ ($P < 0,001$) и $1,28$ ($P < 0,001$) раза ниже показателей группы инвазированного контроля. Снижение уровня белков данной фракции указывает на затухание воспалительных процессов и улучшение общего состояния организма животных.

Уровень β -и γ -глобулинов к 30-му дню опыта повысился и составил $12,84 \pm 0,64 \%$ и $16,22 \pm 0,43 \%$ соответственно, что в $2,01$ ($P < 0,001$) и $1,38$ ($P < 0,01$) раза выше показателей, полученных от инвазированных животных. Это говорит об оперативном и в первую очередь эффективном действии иммуностимулирующего препарата «Иммуновет». Быстрая активизация белков β - и γ -глобулиновых фракций является важным показателем в повышении гуморального звена иммунитета.

Заключение

Применение иммуностимуляторов «Альвеозан» и «Иммуновет», разработанных на основе бактериальных липополисахаридов *Bac. alvei* и *Bac. subtilis* соответственно, телятам в дозе 10 мкг/кг живой массы один раз в сутки в течение трех дней с интервалом 24 ч оказывает положительное воздействие на клеточный иммунитет путем увеличения количества розеткообразующих Т- и В-лимфоцитов и гуморальный иммунитет путем снижения уровня α_1 - и α_2 -глобулинов, повышения содержания β - и γ -глобулинов, уменьшения количества циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови, что, в свою очередь, способствует освобождению животных от паразитов желудочно-кишечного тракта.

Литература

1. Василькова, В. П. Влияние паразитов желудочно-кишечного тракта на организм телят / В. П. Василькова, М. В. Якубовский // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. – 2016. – № 1. – С. 34–42.
2. Оленич, В. П. Динамика белков сыворотке крови телят при ассоциативных паразитозах желудочно-кишечного тракта / В. П. Оленич // Агр. вестн. Урала. – 2011. – № 12–2 (92). – С. 41–43.
3. Паразитарные зоонозы / М. В. Якубовский [и др.] ; под общ. ред. М. В. Якубовского. – Минск : Наша Идея, 2012. – 384 с.
4. Якубовский, М. В. Особенности иммунитета при ассоциативных паразитозах желудочно-кишечного тракта телят / М. В. Якубовский, Т. Я. Мясцова, В. П. Оленич // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями : материалы науч. конф., Москва, 16–18 мая 2012 г. / ВИГИС, Всерос. об-во гельминтологов. – М., 2012. – С. 468–472.

Поступила 27.04.2017 г.

ЗООНОЗЫ И ОСОБО ОПАСНЫЕ БОЛЕЗНИ

УДК 619:616.98:578.835.2:616-036.22

Д. А. Лозовой

КОМПЛЕКС СОВМЕСТНЫХ МЕР ГОСУДАРСТВ – УЧАСТНИКОВ СНГ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ И БОРЬБЕ С ЯЩУРОМ И ЕГО РЕАЛИЗАЦИЯ В 2016 ГОДУ

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия

Введение

Ящур в соответствии с современной международной классификацией включен в список болезней Международного эпизоотического бюро (МЭБ) в категорию «Болезни, инфекции и инфекации нескольких видов животных», вследствие того, что им могут болеть сельскохозяйственные и дикие животные более 100 видов, принадлежащих к 33 семействам, относящихся к 14 отрядам (КРС, МРС, свиньи, буйволы, верблюды, яки, олени, косули, лоси, кабаны и др.) [1, 2]. Ящур относится к особо опасным трансграничным заболеваниям животных и подлежит обязательной нотификации.

Возбудителем болезни является безоболочечный РНК-содержащий вирус ящура семейства *Picornaviridae*. Различают следующие серотипы вируса: 1) О; 2) А; 3) С; 4) Азия-1; 5) САТ-1; 6) САТ-2; 7) САТ-3. В пределах каждого типа существует множество генетических и антигенных вариантов вируса. Животные, переболевшие ящуром одного типа, могут повторно заболеть в случае заражения вирусом другого типа. Источником возбудителя инфекции являются инфицированные и больные животные, а также животные-реконвалесценты, которые длительное время могут быть вирусоносителями. Вирус передается в основном алиментарно и аэрогенно. Заболевание может протекать в форме эпизоотий и панзоотий с тяжелыми экономическими и социальными последствиями. Так, при эпизоотии ящура типа О в Великобритании в 2001 г. было зарегистрировано 2030 очагов, уничтожено свыше 4 млн животных, ущерб составил около 12 млрд долл. США. На борьбу с ящуром во всем мире ежегодно тратится примерно 8 млрд долл. США [5]. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») постоянно отслеживает эпизоотическую ситуацию по ящуру в России, в мире и, особенно, в сопредельных странах, часть из которых является неблагополучной по ящуру.

Результаты исследований

Анализ последних данных МЭБ свидетельствует о том, что несмотря на принимаемые меры, эпизоотическая ситуация по ящуру в мире остается довольно напряженной. По официальным данным, в 2015–2016 гг. неблагополучными по ящуру были 64 страны: африканских – 35, азиатских – 27, европейских – 2. При этом регистрировали ящур шести известных типов, в том числе: типа О – в 38 странах, типа А – в 21, типа Азия-1 – в 6 х, типа SAT-1 – в 11, типа SAT-2 – в 11, типа SAT-3 – в 2; в 13 странах вирус не был типирован [4]. В ряде государств выделяли вирус ящура типов 2–4 (Афганистан, Иран, Китай, Монголия, Пакистан, Турция, ДР Конго, Египет, Кения, Танзания, Эфиопия). В некоторых странах ящур получал значительное распространение. В 2015–2016 гг. среди КРС и МРС в Турции было зарегистрировано 572 очага ящура, в Иране – 1260 очагов типов О, А, Азия-1, в Китае среди КРС и свиней и в Монголии среди КРС и МРС – по 7 очагов типов А и О.

В 2015 г. массовые вспышки ящура были отмечены во многих провинциях Турции, в том числе и вблизи границы с Арменией. В декабре 2015 г. вспышка ящура типа А была зарегистрирована среди КРС и свиней в Армении на границе с Турцией. Выделенный при этом вирус имел близкое родство с ранее выделенным в 2015 г. в Саудовской Аравии, Иране, Турции и определен как новый штамм типа А генотипа G-VII.

В Китае в 2017 г. (за 5 мес.) среди КРС и свиней было установлено 8 очагов ящура типов О и А, в Монголии среди КРС и МРС – 16 очагов типа О. В Китае, в Синьцзян – Уйгурском автономном районе, который граничит с Республиками Казахстан, Таджикистан, Кыргызской Республикой, Монголией, Россией, а также с Афганистаном, Индией и Пакистаном, в 2017 г. зарегистрирован ящур типов О и А.

За последние годы в России были зарегистрированы в основном случаи заносного ящура типов О и А в регионах, граничащих с Китаем, Монголией и Грузией [3]. В 2016 г. в России в ранее неблагополучном Забайкальском крае, который граничит с Китаем, среди КРС зарегистрировано три вспышки ящура типа О. Их возбудитель отнесен к генетической линии О/ME-SA/Ind-2001, которая ранее не регистрировалась в России.

Необходимо отметить, что вспышки последних лет были обусловлены в основном антигенно измененными штаммами вируса ящура, в связи с чем актуальным является оперативное выделение и изучение антигенного и генетического соответствия эпизоотических изолятов производственным штаммам, используемым для изготовления вакцин.

С целью определения соответствия вновь выделенных изолятов вируса ящура вакцинным штаммам в ФГБУ «ВНИИЗЖ» проводили обширные исследования по определению r_1 . Было установлено, что вакцина из штамма вируса ящура типа А/SEA-97 обеспечивает защиту от изолятов вируса, выделенных при вспышках в Забайкальском крае России и в Монголии.

Результаты изучения изолята А генотипа G-VII, выделенного из проб патматериала из Армении, свидетельствуют об отсутствии антигенного родства его с производственными штаммами вируса ящура типа А, ранее используемыми для профилактической иммунизации. В связи с этим ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2016 г. разработало вакцину, содержащую данный штамм. Результаты ее применения в Армении были положительными. Результаты изучения изолятов вируса ящура типа О, выделенных из проб из России, стран Центральной Азии, Монголии и Южной Кореи, показали, что ФГБУ «ВНИИЗЖ» имеет актуальные вакцинные штаммы для профилактики ящура. В настоящее время Россия благополучна по ящуру.

Своевременное выявление больных животных, отбор от них проб патматериала и доставка их для исследования, идентификация возбудителя, изучение выделенных изолятов, срочное изготовление вакцин с использованием новых штаммов и их оперативное применение в неблагополучных зонах позволили купировать и ликвидировать в 2013–2014 гг. очаги ящура и не допустить широкого распространения инфекции. Благодаря этому в 2015 г. новых очагов ящура на территории России зарегистрировано не было.

Постоянная напряженная эпизоотическая ситуация в мире по ящуру диктует необходимость координации мер по профилактике и борьбе с этой инфекцией между различными государствами, в том числе и между странами СНГ. С учетом этого был разработан Комплекс совместных мер государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром на период до 2020 года, утвержденный в Минске решением Совета глав правительств СНГ 30 мая 2014 г. Основными целями Комплекса совместных мер являются обеспечение благополучия по ящуру каждого государства и Содружества в целом, минимизация экономического ущерба при возможном возникновении вспышек ящура, оптимизация, координация и гармонизация совместных действий ветеринарных служб стран СНГ в этих направлениях.

Координатором работ и мероприятий по Комплексу совместных мер было определено ФГБУ «ВНИИЗЖ», которое с 1995 г. имеет международный статус Региональной референтной лаборатории МЭБ по ящуру для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья, а с 2013 г. еще и статус Референтного центра ФАО по ящуру для стран Центральной Азии и Западной Евразии. Контроль за ходом реализации мер Комплекса совместных мер возложен на Межправительственный совет по сотрудничеству в области ветеринарии СНГ. На его заседании, которое проходило 11–13 мая 2016 г. в Брестской области Республики Беларусь, были подведены итоги проделанной работы.

Как следует из представленных отчетных материалов, основными мероприятиями, проведенными в государствах – участниках СНГ в рамках реализации Комплекса совместных мер, являлись совершенствование нормативно-правовой базы, включая разработку и совершенствование национальных программ по профилактике и борьбе с ящуром, а также повышение квалификации

ветеринарных специалистов по вопросам диагностики ящура, современных методов профилактики и борьбы с ним.

Так, Федеральным законом Российской Федерации от 13 июля 2015 г. «О внесении изменений в закон РФ “О ветеринарии” и отдельные законодательные акты РФ» расширены и уточнены полномочия России в части разработки, утверждения и актуализации ветеринарных правил, устанавливающих обязательные для исполнения требования и процедуры, регламентированы вопросы ветеринарной сертификации подконтрольных государственной ветеринарной службе товаров. Принятие этих изменений в виде закона создает условия для предупреждения появления и распространения на территории Российской Федерации новых и экзотических болезней, опасных как для животных, так и для человека, для более эффективного осуществления мер по обеспечению эпизоотического и ветеринарно-санитарного благополучия в России, а также позволит специалистам обоснованно и мотивированно применять административные меры воздействия к нарушителям ветеринарного законодательства, в том числе и при проведении противоящурных мероприятий.

В Республике Беларусь действуют Ветеринарно-санитарные правила по профилактике и борьбе с ящуром (2010 г.), а также Положения о порядке установления и снятия карантина, о порядке изъятия больных животных и продуктов от них при ликвидации очагов заразных болезней животных, утвержденные постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 29 августа 2013 г. № 758.

В 2016 г. расширилось сотрудничество государств – участников СНГ с МЭБ и ФАО, в частности в отношении разработки и реализации планов поэтапной борьбы с ящуром с целью улучшения или сохранения официального статуса стран в соответствии с Глобальной стратегией борьбы с ящуром ФАО/МЭБ [5].

К настоящему времени Беларусь, Молдова и Украина официально признаны МЭБ странами, благополучными по ящуру без вакцинации. В них проводятся мероприятия по сохранению этого официального статуса. В мае 2015 г. на 83-й Генеральной сессии МЭБ Казахстан получил сертификат о признании своей страны зоной, свободной от ящура без применения вакцины, включающей девять северных и западных областей, а в мае 2017 г. на 85-й сессии – зоной, благополучной по ящуру с вакцинацией, включающей пять южных и восточных областей. В мае 2016 г. на 84-й Генеральной сессии МЭБ было принято решение о признании Российской Федерации зоной, благополучной по ящуру без вакцинации, включающей 50 регионов, которые более 20 лет являются благополучными по ящуру.

В государствах – участниках СНГ разрабатывались и реализовывались планы профилактической иммунизации животных против ящура с охватом различного поголовья, в основном с использованием противоящурных вакцин производства ФГБУ «ВНИИЗЖ». В России успешно функционирует противоящурная буферная зона, включающая южные регионы страны, граничащие с иностранными государствами. Россельхознадзором и ФГБУ «ВНИИЗЖ»

ежегодно даются рекомендации по функционированию буферной зоны, стратегии профилактической вакцинации и использованию актуальных производственных штаммов вируса ящура для изготовления противоящурных вакцин.

Согласно приказу Россельхознадзора, для оценки эффективности функционирования противоящурной буферной зоны осуществляется мониторинг напряженности иммунитета и исключения возможной циркуляции вируса ящура у вакцинированных животных. В рамках выполнения данного приказа в 2016 г. было проведено 136 тысяч исследований различных материалов от животных из России и других стран.

Решающая роль в профилактике ящура принадлежит систематической вакцинации животных, однако в современных условиях необходимо уделять внимание и другим элементам борьбы с ящуром. В России, например, осуществляются меры по недопущению заноса вируса на территорию страны, ее районирование, прогнозирование, постоянное эпизоотологическое обследование животноводческих ферм, систематическая иммунизация животных в зонах высокой степени риска заноса и распространения ящура с использованием вакцин, содержащих актуальные производственные штаммы вируса ящура, проведение серо- и иммунологического мониторинга, поддержание резерва различных вакцин, диагностикумов, ветеринарной техники и дезинфицирующих средств для купирования и ликвидации возможных ящурных очагов.

Важным документом, направленным на усиление противоящурных мероприятий и повышение их результативности, является Комплекс совместных мер государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром на период до 2020 года, выполнение которого позволяет обеспечить благополучие стран по ящуру. В настоящее время, по официальным данным, все страны СНГ являются благополучными по ящуру.

Вместе с тем, как отмечают руководители ряда ветеринарных служб государств – участников СНГ, в ходе реализации мероприятий Комплекса совместных мер возникли некоторые проблемы: недостаточное финансирование противозооотических мероприятий, нехватка современного лабораторного оборудования, отсутствие достоверной информации по эпизоотической ситуации в некоторых государствах (Узбекистане, Таджикистане, Украине) и др.

Анализ представленных материалов показывает, что проблема профилактики и борьбы с ящуром в государствах – участниках СНГ имеет масштабный характер, а причины – во многом трансграничные аспекты. Эпизоотическая ситуация по ящуру во всем мире продолжает оставаться довольно напряженной, поэтому следует и далее развивать и совершенствовать максимально открытое сотрудничество государств – участников СНГ в данной области.

В связи с этим необходимо подчеркнуть, что в случаях подозрений на заболевание животных ящуром или затруднений в диагностике, ФГБУ «ВНИИЗЖ» как Региональная референтная лаборатория МЭБ по ящуру и Референтный центр ФАО по ящуру для стран Центральной Азии и Западной Евразии проводит бесплатно необходимые диагностические исследования, в том числе

молекулярно-биологические, а также на договорной основе изготавливает и поставляет в разные страны диагностикумы и противоящурные вакцины соответствующих типов, в том числе изготовленные с использованием новых актуальных штаммов вируса ящура, генетически родственных штаммам, циркулирующим в регионе, для которого производится вакцина, а также оказывает различные услуги как по профилактике инфекционных болезней животных и методическое обслуживание ветеринарных служб этих стран, так и по выработке эффективных решений для локализации и ликвидации эпизоотических очагов, обеспечения благополучия территорий СНГ от эпизоотий ящура.

Заключение

Эпизоотическая ситуация по ящуру в мире в 2015–2016 гг. характеризовалась определенной напряженностью. Возникновение ящура в 2013–2014 гг. в субъектах Российской Федерации было обусловлено заносом новых штаммов из сопредельных территорий, так как во время вспышек были выделены изоляты вируса ящура, антигенно родственные тем вирусам, которые циркулировали в соседних странах. Своевременная диагностика вспышек ящура, идентификация выделенных изолятов, срочное изготовление вакцин с использованием новых штаммов и их оперативное применение в неблагополучных зонах позволили купировать и ликвидировать ящурные очаги. С целью недопущения заноса, возникновения и распространения ящура необходимо добиваться своевременного и полного осуществления комплекса общих и специальных ветеринарно-санитарных мер по обеспечению устойчивого благополучия стран СНГ по ящуру.

Литература

1. Критерии включения болезней, инфекций и инфеcтаций в список МЭБ // МЭБ. Кодекс здоровья наземных животных. – 25-е изд. – Париж, 2016. – Т. 1. – С. 4–7.
2. Лозовой, Д. А. Эпизоотическая ситуация по ящуру в мире в 2013–2015 гг. и меры борьбы с ним / Д. А. Лозовой, А. М. Рахманов // Ветеринария сегодня. – 2016. – № 1 (16). – С. 38–42.
3. Щербаков, А. В. Молекулярная эпизоотология ящура в России (филогенетический анализ российских изолятов вируса ящура) / А. В. Щербаков // Ветеринария сегодня. – 2015. – № 3 (14). – С. 30–36.
4. OIE. Disease Information. – 2015. – Vol. 28, № 1. – 53 p.; 2016. – Vol. 29, № 1. – 52 p.
5. OIE/FAO. The Global Foot-and-Mouth Disease Control Strategy. – Paris, 2012. – 43 p.

Поступила 27.06.2017 г.

М. В. Якубовский¹, Т. Я. Мяцова¹, А. П. Борищик², Н. Л. Козлова²

ДИРОФИЛЯРИОЗ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ В БЕЛАРУСИ

¹РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышеселеского»,
г. Минск, Беларусь

²ДУ «Гомельская областная ветеринарная лаборатория», г. Гомель, Беларусь

Введение

В последнее время в республике обозначилось такое зоонозное паразитарное заболевание, как дирофиляриоз.

Проблема дирофиляриоза обусловлена широкой циркуляцией возбудителя в природной среде, недостаточной осведомленностью специалистов о методах диагностики и дегельминтизации зараженных животных, которые являются облигатными хозяевами. В дикой природе источниками инвазии являются еноты, бурые медведи, волки, лисицы, хорьки, ондатры и другие животные [1–4].

При паразитировании в организме дирофилярии индуцируют сильные супрессирующие механизмы, включающие Т-клетки-супрессоры, которые снижают или сводят к нулю эффективность иммунного ответа хозяина [6].

Согласно статистическим данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья Министерства здравоохранения Республики Беларусь, выявление единичных случаев заболевания дирофиляриозом людей на территории Беларуси относится к 1970-м годам. Заболевания того периода были преимущественно завозного характера. В типичных случаях это было связано с пребыванием людей в регионах с теплым и жарким климатом, где они подвергались многочисленным укусам комаров. С 1997 г. заболевания дирофиляриозом людей на территории Беларуси начали выявлять регулярно.

В последние годы, особенно с 2011 по 2016 г., выявление случаев заболевания людей дирофиляриозом резко возросло. На этом основании можно предположить, что заражение людей дирофиляриями происходит на территории республики.

Возбудитель дирофиляриоза проникает в организм человека посредством трансмиссивного механизма заражения. Микрофилярии, циркулирующие в крови инвазированных животных, являются неинвазионными и не представляют непосредственной опасности для других животных или человека. Для дальнейшего развития эти паразиты должны попасть в организм комаров.

Способствует распространению дирофиляриоза увеличение количества бродячих животных, массовая их миграция, потепление климата. Передача инвазии может осуществляться также иксодовыми клещами, слепнями, другими членистоногими. В городах заражение дирофиляриями животных может происходить в течение года комарами рода *Culex*, обитающими во влажных подвалах помещений.

Исследования В. Б. Ястреба в 2007 г. показали, что при диагностике дирофиляриоза в крови методом Кнотта и концентрации с дистиллированной водой личинки дирофилярий были выявлены со 100 %-ной корреляцией обоих методов, тогда как эффективность метода тонкого фиксированного мазка составила 10,9 %, а толстой раздавленной капли крови – 19,6 % [5].

Материалы и методы исследований

Изучение распространения дирофиляриоза среди собак и кошек разных пород и возраста осуществляли в г. Гомеле, Гомельской и Брестской областях. Для исследования проводили забор крови из вены в утренние и вечерние часы. Кровь стабилизировали гепарином из расчета 100 ЕД на 1 мл крови. Кровь на наличие личинок дирофилярий изучали в течение суток после взятия. Исследование гемолизированной крови проводили после смешивания с водой в соотношении 1:3–1:5 в зависимости от вязкости крови. После гемолиза эритроцитов жидкость порционно помещали на стеклянные пластинки размером 12 × 9 см или другие, после оседания лейкоцитов и оболочек эритроцитов (около 1 мин) проводили микроскопирование при увеличении микроскопа 10 × 10 и/или 10 × 20. При обнаружении личинок учитывали их морфологическое строение и характер движения: на месте без передвижения или передвижение с одного места в другое.

Изучение интенсивности инвазии при дирофиляриозе проводили путем подсчета личинок дирофилярий в 1 мл крови. Для концентрации личинок гемолизированную кровь центрифугировали при 1500 об/мин в течение 7 мин, затем надосадок аккуратно отсасывали и добавляли 0,85 %-ный водный раствор хлористого натрия в количестве 0,5–1,0 мл. Затем его тщательно перемешивали и микроскопировали. После такой обработки крови личинки дирофилярий оставались живыми, хотя движения их были значительно менее активны.

Для проведения дифференциальной диагностики видов дирофилярий изготавливали тонкие мазки крови, которые высушивали на воздухе, фиксировали и окрашивали, используя набор Leucodif 200 и по Романовскому–Гимзе. Микроскопию проводили при увеличении 10 × 40 и 10 × 90.

Обследованию были подвергнуты собаки, принадлежащие населению, и служебные собаки. Изучение зараженности животных дирофиляриями проводили в конце весны, середине лета, конце осени 2016 г. и зимой 2017 г.

Всего было обследовано 157 собак и 17 котов.

Результаты и их обсуждение

При обследовании 26 собак в весенний период личинки дирофилярий *D. immitis* были обнаружены у 12-летней собаки породы немецкая овчарка, что составило 3,85 % от всех обследованных животных.

В летний период при обследовании 26 животных установлено, что экстенсивность инвазии дирофиляриями в это время значительно увеличилась

и составила в среднем $16,0 \pm 4,94$ %. Личинки дирофилярий *D. immitis* обнаруживали у собак 5-, 6-, 10- и 13-летнего возраста, у которых экстенсивность инвазии составила 33,33, 100, 50,0 и 100 % соответственно.

К концу осени экстенсивность инвазии микрофиляриями дирофилярий у собак выросла до $44,0 \pm 6,23$ %. В этот же период года была зарегистрирована подкожная форма дирофиляриоза у двух собак 8-летнего возраста – гончей (г. Гомель) и беспородной (Буда-Кошелевский р-н), что составило 4,0 % от обследованных животных.

В зимний период экстенсивность инвазии микрофиляриями дирофилярий у собак в Гомельской области составила 9,09 % и Брестской области – 6,06 %, а в среднем по южному региону – $7,27 \pm 1,09$ %.

Динамика заражения собак дирофиляриями в зависимости от возраста и сезона года четко прослеживается на рис. 1. Осенью в крови 40,0 % собак были обнаружены микрофилярии с экстенсивностью инвазии от 11,11 до 100 %.

В среднем инвазированность собак дирофиляриями за весь период исследований по южному региону республики составила $19,11 \pm 7,27$ %, в том числе у 17,83 % собак были обнаружены личинки *Dirofilaria immitis* и у 1,27 % – личинки *Dirofilaria repens*.

Если рассматривать инвазированность собак в зависимости от возраста, весной личинки дирофилярий были обнаружены у собак 12-летнего возраста, летом – 5,0–13,5 лет, осенью возрастной диапазон животных составил от 9 месяцев до 12 лет, а зимой – у собак 7- и 9-летнего возраста.

В различные сезоны года интенсивность инвазии имеет свои особенности. Весной максимальное количество личинок дирофилярий в крови собак составило $3072 \pm 50,88$ лич/мл крови, затем в течение лета она снизилась до 1858 ± 977 лич/мл крови (17–5102). Осенью интенсивность инвазии отмечалась на низком уровне от 3 ± 0 лич/мл крови до $36,0 \pm 16,50$ лич/мл крови, зимой 7–7720 лич/мл крови.

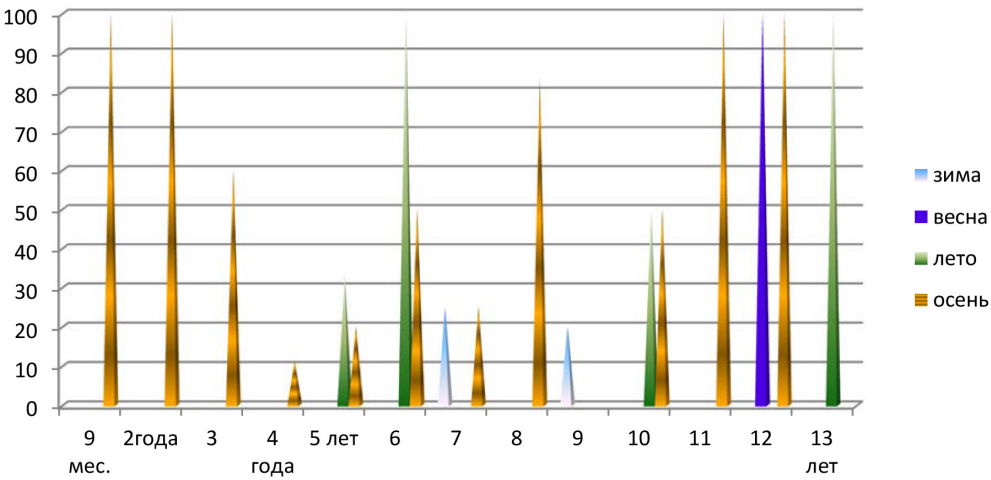


Рис. 1. Зараженность собак личинками дирофилярий в зависимости от возраста и сезона года, %

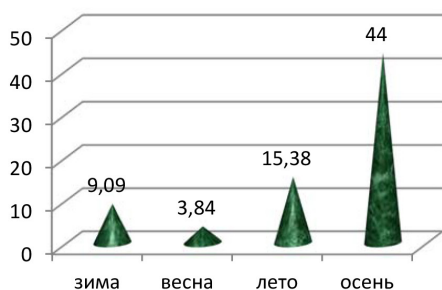


Рис. 2. Сезонная зависимость экстенсивности инвазии (%) микрофиляриями дирофилярий у собак

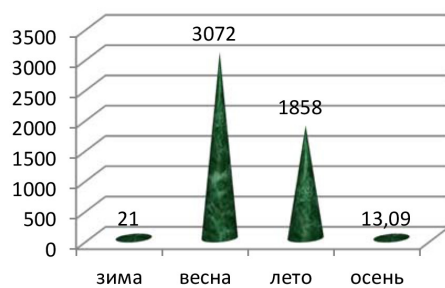


Рис. 3 Сезонная зависимость интенсивности инвазии (лич/мл крови) микрофиляриями дирофилярий у собак

Между экстенсивностью инвазии дирофиляриями и интенсивностью инвазии прослеживается обратно пропорциональная связь. Так, экстенсивность инвазии весной минимальная, а осенью максимальная, тогда как интенсивность инвазии весной максимальная, а осенью минимальная (рис. 2, 3).

Такая закономерность позволяет в начале теплого периода года максимально заражаться большому количеству комаров во время кровососания, так как личинки в большом количестве находятся в периферической крови (при невысокой экстенсивности инвазии), а затем они нападают на животных различного возраста и передают им уже инвазионные личинки дирофилярий.

Результаты морфологического изучения личинок дирофилярий показали, что личинки относятся к видам *Dirofilaria immitis* и *Dirofilaria repens* (см. таблицу).

Сравнительная характеристика микрофилярий дирофилярий *Dirofilaria immitis* и *Dirofilaria repens*

Параметр	<i>Dirofilaria immitis</i>	<i>Dirofilaria repens</i>
Длина, мкм	261,1–337,2	272,4–364,5
Ширина, мкм	3,75–5,2	6,0–7,0
Передний конец	Конический	Тупой/прямоугольный
Задний конец	Прямой, заостренный	Прямой и чуть загнут
При окраске по Романовскому–Гимзе	Четко выделяются неокрашенные экскреторная и анальная поры	Четко выделяется только неокрашенная анальная пора

При обследовании котов личинки дирофилярий у них не обнаружены.

Увеличение интенсивности инвазии у собак с увеличением возраста, видимо, связано с возможной ежегодной реинвазией собак микрофиляриями, что приводит к увеличению интенсивности инвазии половозрелыми дирофиляриями, и, соответственно, появлению в последующие годы в крови большего количества личинок.

Заключение

Установлено наличие заражения собак дирофиляриями и риска трансмиссивного пути передачи возбудителя через комаров в климатических условиях Республики Беларусь. Экстенсивность и интенсивность инвазирования собак

зависят от возраста животных и сезона года и составляют в среднем по южному региону республики $19,11 \pm 7,27$ % с интенсивностью 3–7720 лич/мл крови.

Метод выявления личинок дирофилярий в гемолизированной крови является малозатратным и эффективным. Он позволяет обнаружить единичные личинки дирофилярий (до 3 лич/мл крови), причем личинки в осадке остаются живыми.

Микрофилярии дирофилярий идентифицированы как личинки *Dirofilaria immitis* в 17,83 % случаев и *Dirofilaria repens* в 1,27 % случаев.

У котов микрофилярии дирофилярий не обнаружены.

Литература и источники

1. Беспалова, Н. С. Дирофиляриоз собак в Воронеже и Воронежской области / Н. С. Беспалова, Т. А. Золотых // Рос. паразитолог. журн. – М., 2015. – Вып. 2. – С. 38–42.
2. Диагностика и лечебно-профилактические мероприятия при дирофиляриозах плотоядных животных / Н. В. Есаулова [и др.] // Москва–2007. – М. : ФГОУ ВПО МГАВМиБ, 2006. – 22 с.
3. Пульняшенко, П. Р. Ветеринарный госпиталь «Фауна сервис», г. Киев. – Режим доступа: <http://svartapim.ucoz.ru/forum/18-530-1>
4. Серебрякова, Н. В. Научное обоснование комплекса мероприятий при дирофиляриозе служебных собак : автореф. дис. ... канд. вет. наук / Н. В. Серебрякова. – Новочеркасск, 2009. – 22 с.
5. Ястреб, В. Б. Гельминтозоозы: эхинококкоз и дирофиляриоз (биоморфологические особенности возбудителей, совершенствование мер борьбы) : автореф. дис. ... д-ра вет. наук / В. Б. Ястреб. – М., 2009. – 38 с.
6. Ястреб, В. Б. Особенности патогенеза при дирофиляриозах собак, вызываемых *Dirofilaria immitis* и *D. repens* / В. Б. Ястреб // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями : материалы докл. науч. конф. – М., 2009. – С. 448–452.

Поступила 30.03.2017 г.

УДК 619:614.31:637.5'64:616.995.121:636.4

**Н. В. Букалова¹, Н. М. Богатко¹, Л. П. Артеменко¹,
В. П. Гончаренко¹, Т. Н. Прилипко²**

ВЛИЯНИЕ ЭХИНОКОККОЗНОЙ ИНВАЗИИ НА БЕЗОПАСНОСТЬ И КАЧЕСТВО МЯСНОГО СЫРЬЯ

¹Белоцерковский национальный аграрный университет,
г. Белая Церковь, Украина

²Подольский государственный аграрно-технический университет,
г. Каменец-Подольский, Украина

Введение

Эхинококкоз сельскохозяйственных животных ежегодно наносит существенные экономические убытки животноводству. Чаще болеют овцы, крупный рогатый скот, свиньи, верблюды, северные олени, реже – лошади и другие однокопытные [1]. Больные животные отстают в развитии, худеют, иногда у них регистрируют летальный исход. Продуктивность зараженных животных резко

снижается: уменьшаются удои у коров, замедляется рост и развитие молодняка, ухудшается качество шерсти, снижается работоспособность рабочих животных и т. д. [2]. После убоя продуктивных животных значительное количество пораженных органов выбраковывают.

Руководствуясь Законами и нормативными документами Украины [3, 5], Регламентами ЕС [4], можно утверждать, что основным в сфере обеспечения безопасности и качества продуктов животного происхождения является создание условий безопасности для здоровья людей при изготовлении, транспортировке, хранении, реализации, использовании, утилизации или уничтожении продуктов убоя и продовольственного сырья.

Материалы и методы исследований

Предмет исследований – туши и органы клинически здоровых и больных эхинококкозом свиней; *объект* исследований – показатели качества и безопасности продуктов убоя больных животных. Исследования проводили, согласно действующей нормативной документации, на протяжении 2014–2016 гг.

Комплексная ветеринарно-санитарная экспертиза (органолептические, технологические, физико-химические, биохимические, санитарно-микробиологические, токсико-биологические показатели) продуктов убоя свиней, пораженных эхинококками, позволила разработать научно обоснованные пути совершенствования санитарной оценки продуктов убоя при эхинококкозной инвазии.

Результаты и их обсуждение

В процессе послеубойного осмотра печени с незначительным поражением (интенсивность инвазии 5–6 ларвоцист), патологоанатомические изменения незаметны, но выявляются признаки перерождения ткани вокруг стенки ларвоцисты на расстоянии 1,5–2,0 см.

Печень при значительной степени поражения – матово-серого цвета, плотная, увеличена, деформирована ларвоцистами, в некоторых случаях с признаками атрофии паренхимы и развития в ней фиброзной ткани. При множественном поражении органа эхинококками – значительных размеров, его поверхность бугристая. Пузыри наполнены прозрачной, слегка опалесцирующей жидкостью с протосколексами на внутренней (герминативной) оболочке.

При высокой интенсивности эхинококкозной инвазии (до 2 тысяч ларвоцист) – туши с признаками истощения, плохо обескровлены, их поверхность не имеет подсыхающей корки, мышцы на разрезе – влажные, консистенция их менее упругая, ямка при нажатии пальцем выравнивается медленно, бульон при пробе варкой слегка мутный, без осадка, со слабым ароматом. Некоторые туши имеют желтушную окраску. Цвет ткани печени на разрезе буро-красный, паренхима кашицеобразная, легко соскабливается, при пробе варкой бульон имеет выраженный горький привкус. Наблюдаются отек и размягчение портальных лимфатических узлов.

При незначительном поражении печени органолептические показатели туш свиней не отличаются от туш здоровых животных. Технологические показатели, убойные и мясные качества туш больных животных ниже по сравнению с тушами здоровых. Убойный выход меньше на 4,2 %, длина бековой части – на 11,6, а масса охлажденной туши – на 14,7 %. Результаты исследований подтверждают данные Ю. К. Богоявленского с соавторами [2] о том, что большая эхинококкозом свинья теряет в среднем 1,5 кг сала, 5,3 кг мяса и 1,5 кг субпродуктов.

Мясо от пораженных ларвоцистами животных имеет сомнительные показатели бензидиновой пробы, отличаются и показатели pH мяса. У туш здоровых животных через 24 ч от начала процесса собственно созревания pH составляет 5,6, а пораженных – 6,5, что свидетельствует о поверхностных ферментативных процессах в мясе пораженных животных, быстром росте и размножении микрофлоры (табл. 1).

Таблица 1. Показатели содержания гликогена, глюкозы и молочной кислоты в мясе здоровых и пораженных эхинококками свиней, в зависимости от длительности процесса его созревания (n = 15)

Длительность процесса созревания, ч	рН	Количество, %		
		гликогена	глюкозы	молочной кислоты
Мясо здоровых животных				
1	6,2 ± 0,54	634 ± 55	160 ± 14	319 ± 36
12	5,9 ± 0,45	462 ± 34	171 ± 16	609 ± 63
24	5,6 ± 0,74	274 ± 36	202 ± 25	700 ± 69
48	5,6 ± 0,53	183 ± 24	222 ± 18	692 ± 78
Мясо эхинококковых животных				
1	7,0 ± 0,92	582 ± 53	108 ± 14	267 ± 23
12	6,8 ± 0,54	410 ± 37	119 ± 26	557 ± 67
24	6,5 ± 0,76	221 ± 28	150 ± 19	648 ± 65
48	6,5 ± 0,34	129 ± 14	171 ± 14	640 ± 62

После 1-го часа созревания свиных полутуш в холодильной камере при температуре 2–4 °С количество гликогена, глюкозы и молочной кислоты в мясе больных животных по сравнению с мясом здоровых меньше на 8,9, 48,1, 19,5 %; через 12 ч – на 12,7, 43,7, 9,3 %; через 24 ч – на 23,9, 34,7, 8,0 %; через 48 ч – на 41,9, 29,8, 9,4 %, соответственно.

Таким образом, накопление в мясе молочной и фосфорной кислот приводит к увеличению в нем концентрации ионов водорода, вследствие чего, к 24-му часу созревания, показатель pH мяса здоровых животных снижается до 5,6, а пораженных – 6,5. Молочная кислота при этом играет существенную роль в процессе созревания мяса, поскольку необходимым условием для ее образования является достаточное количество гликогена, которого у больных животных гораздо меньше.

На основании проведенных исследований можно утверждать, что пораженная печень свиней не может в достаточной степени выделять гликоген.

По биохимическим показателям мясо больных эхинококкозом свиней имеет более низкие показатели пищевой ценности, по сравнению с мясом здоровых животных. Такое мясо содержит на 1,3 % больше воды, на 2,6 % меньше белка, 0,4 % жира, имеет более низкие (на 0,7 %) показатели энергетической ценности, на 37,5 % меньше витамина В₁₂, что объясняется, по-видимому, снижением количества белка в мясе больных животных, с которым этот витамин легко связывается и находится в недиализированном состоянии.

Результаты бактериологических исследований туш свиней приведены в табл. 2 и 3, где представлено количество проб мяса от разных групп животных, в которых обнаружены аэробные (энтеропатогенные серовары кишечной палочки – *E. coli*, *Bact. faecalis alcaligenes*) и анаэробные микроорганизмы (клостридии – *Cl. perfringens*, *Cl. sporogenes*). Из данных этих таблиц следует, что поражение свиней эхинококками способствует эндогенной контаминации органов и мышц, и чем выше интенсивность инвазии, тем выше процент проб мяса, в которых выделены патогенные микроорганизмы.

Таблица 2. Количество исследуемых проб туш свиней, из которых выделены энтеропатогенные серовары *Escherichia coli* (026, 055), *Bacteria faecalis alcaligenes*, % (n = 15)

Группа	Проба								
	<i>a</i>	<i>б</i>	<i>в</i>	<i>г</i>	<i>д</i>	<i>е</i>	<i>жс</i>	<i>з</i>	<i>и</i>
I	37	46	41	39	43	44	80	57	41
II	36	45	30	34	34	23	73	48	30
III	10	14	15	12	12	7	50	45	10

П р и м е ч а н и я.

1. В зависимости от интенсивности инвазии туши свиней поделены на группы: I – со значительным поражением печени, которую направляли на техническую утилизацию; II – туши свиней, печень которых после зачистки мест с эхинококковыми пузырями направляли на переработку без ограничения; III – туши свиней со здоровой печенью.

2. Пробы: *a* – мышцы передней части туши; *б* – мышцы задней части туши; *в* – лимфатические узлы передней части туши; *г* – лимфатические узлы задней части туши; *д* – лимфатические узлы плевры; *е* – лимфатические узлы брыжейки; *жс* – печень; *з* – лимфатические узлы печени; *и* – селезенка.

Таблица 3. Количество исследуемых проб мяса свиней, из которых выделены *Clostridium perfringens* и *Clostridium sporogenes*, % (n = 15)

Группа	Проба								
	<i>a</i>	<i>б</i>	<i>в</i>	<i>г</i>	<i>д</i>	<i>е</i>	<i>жс</i>	<i>з</i>	<i>и</i>
I	13	13	15	21	23	21	31	21	25
II	4	6	5	7	4	2,5	5	2,5	–
III	–	–	–	–	–	–	1,4	2,7	1,4

П р и м е ч а н и я. Те же, что и в табл. 2.

Пораженные эхинококками туши с желтушной окраской тканей и органов, которая не исчезала на протяжении двух суток, имели более высокую контаминацию глубоких слоев мышц и паренхиматозных органов кокковой микрофлорой, сальмонеллами (8,0 % исследуемых проб), по сравнению с тушами здоровых животных, в мышцах которых микрофлора не выделена.

Таким образом, продукты убоя животных, пораженных эхинококками, могут быть потенциальным источником пищевых отравлений людей. В связи с этим, по нашему мнению, не совсем оправданным является тот факт, что в соответствии с действующими правилами ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясопродуктов [3], пораженные участки печени зачищаются, а непораженные – реализуются без ограничения. Это не соответствует европейским требованиям безопасности продуктов питания [4].

Показатели относительной биологической ценности мяса пораженных эхинококками свиней ниже на 7,5 %, печени – на 24,0 %. Это свидетельствует о более низкой степени переваривания, всасывания, усвоения простейшими *Tetrachimena piriformis*, а, следовательно, и организмом человека, продуктов убоя от больных животных.

Действующие правила санитарной оценки продуктов убоя эхинококкозных животных определяются степенью поражения их органов [3]. При патологических изменениях в скелетной мускулатуре, внутренних органах, а также при желтушной окраске и истощении, туши и внутренние органы утилизируются. При незначительном поражении внутренних органов, после зачистки участков с ларвоцистами, продукты убоя, в том числе и туши, выпускают без ограничения [3]. Все конфискаты как источник инвазии для плотоядных направляют на техническую утилизацию.

Выводы

1. Мясо и другие продукты убоя, полученные от больных эхинококкозом животных, – потенциальный источник пищевых отравлений человека.
2. Продукты убоя, полученные от больных животных, необходимо направлять на бактериологические исследования с целью исключения их контаминации патогенной микрофлорой, проводя санитарную оценку в зависимости от полученных результатов.
3. При выявлении в продуктах убоя больных животных патогенной микрофлоры, их необходимо направлять на высокотемпературную промышленную переработку.

Литература

1. Артеменко, Ю. Г. Распространение эхинококкоза у домашних животных на юге Украины / Ю. Г. Артеменко, Л. И. Чикунова // Бюл. Всесоюз. ин-та гельминтологии. – М., 1984. – Т. 39. – С. 7–10.
2. Богоявленский, Ю. К. Задачи эпидемиологии эхинококкозов и методы борьбы с ними / Ю. К. Богоявленский, Г. Н. Казанцева, Г. К. Резник // Тез. докл. IX съезда Всерос. о-ва гельминтологов. – М., 1996. – С. 17–18.

3. Правила передзабійного огляду тварин і ветеринарно-санітарної експертизи м'яса та м'ясних продуктів [затверджені наказом Державного департаменту ветеринарної медицини України від 07.06.2002 № 28 та зареєстровані у Міністерстві юстиції України 28.01.2004 р. за № 524/6812] : офіц. вид. – К. : Парлам. вид-во, 2014. – 72 с.

4. Про гігієну харчових продуктів : Регламент (ЄС) за № 852/2004/ЄС // Європейський парламент і Ради від 29.04.2004 р. : офіц. вид. – К., 2004. – С. 15–20.

5. Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів : Закон України від 22.07.2014 р., № 1602-VII // Відомості Верховної Ради України. – К. : Парлам. вид-во, 2014. – 74 с.

Поступила 18.05.2017 г.

УДК 636.085/.087:57.083.1:543.4

Г. П. Ривак

МИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В КОРМАХ КАК МЕТОД ПРОФИЛАКТИКИ ГУБЧАТООБРАЗНОЙ ЭНЦЕФАЛОПАТИИ

*Государственный научно-исследовательский контрольный институт
ветеринарных препаратов и кормовых добавок, г. Львов, Украина*

Введение

Впервые гипотеза о возникновении и распространении губчатообразной энцефалопатии (ГЭ), связанная со скармливанием животной муки (костной, мясокостной, кровяной и т. п.), была опубликована в Британии еще в 1988 г. Исследованиями доказано, что одним из основных путей попадания возбудителя ГЭ в организм КРС и других жвачных животных является пероральный при поедании мясокостной муки или других продуктов животного происхождения. Поэтому надлежащий контроль кормов и кормового сырья, которое вносят в состав комбикормов, является важным звеном в предотвращении распространения такой опасной прионной инфекции животных и людей, как губчатообразная энцефалопатия [4].

Требования, порядок и правила проведения идентификации компонентов животного происхождения методом микроскопии в Европейском Союзе до 2009 г. были установлены Директивой 2003/126 от 23 декабря 2003 г. С 27.01.2009 г. в ЕС введено в действие распоряжение 152/2009 относительно методов, которые необходимо проводить при государственном контроле кормов, в том числе и аналитического метода микроскопической идентификации [5]. В Европейском Союзе он является арбитражным методом контроля кормовых

материалов, особенно при выявлении тканей животного происхождения, обработанных при высоких температуре и давлении (133 °C/3 Bar/20) [3].

Приказом от 04.09.2008 г. № 180 Государственным комитетом ветеринарной медицины Украины была утверждена «Инструкция по диагностике, профилактике и борьбе с губчатообразной энцефалопатией крупного рогатого скота», которая устанавливает необходимость осуществления специалистами ветеринарной медицины непрерывного эпизоотологического мониторинга ГЭ КРС относительно кормов, комбикормов, кормовых добавок, сырья, содержащих белки жвачных животных и компоненты животного происхождения. Для профилактики этого заболевания государственные лаборатории ветеринарной медицины обязаны проводить исследования кормов, комбикормов и кормовых добавок для животных (кроме птицы и рыбы) на наличие в них белков жвачных и компонентов животного происхождения.

Исследования проводили в лаборатории контроля кормовых добавок и премиксов Государственного научно-исследовательского контрольного института ветеринарных препаратов и кормовых добавок (г. Львов, Украина), аккредитованной в соответствии с ГСТУ ISO/IEC 17025:2006 Национальным агентством по аккредитации Украины.

Материалы и методы исследований

Аналитический метод микроскопической идентификации используется для обнаружения компонентов животного происхождения (определенных, как продукты переработки тел или частей тел млекопитающих, птицы и рыб) в кормах, кормовых добавках и кормовом сырье. Выполняется с помощью двухступенчатой микроскопической идентификации с использованием биологического и стереомикроскопов при различных диапазонах увеличения, в проходящем и поляризованном поле с использованием объемных реагентов, реактивов для окраски и обесцвечивания, цифровой камеры с системой обработки изображения [2].

Для проведения исследований с целью изучения макро- и микроскопических характеристик были взяты образцы мясокостной и кровяной муки, а также приготовлены образцы рыбной муки и комбикорма с их содержанием для идентификации методом микроскопии. Согласно методике проведено просеивание пробы через сита лабораторные и получено не менее двух фракций ($> 0,5$ мм и $< 0,5$ мм).

Разделение образцов проводили с помощью тетрахлорэтилена, из полученного осадка и флотата готовили микропрепараты: на предметное стекло шпателем наносили небольшое количество, приготовленного исследуемого образца, добавляли 3-4 капли глицерина или парафинового масла (объемный реагент) и рассматривали под биологическим микроскопом при различных диапазонах увеличения [1].

Результаты и их обсуждение

Кровяная мука, в зависимости от способа получения, имеет специфический внешний вид, а также характерные особенности при рассмотрении под стерео- и биологическим микроскопами.

Кровяная мука имеет вид красно-черной пыли, а при рассмотрении под стереомикроскопом – мелкодисперсного порошка матового темного красно-черного цвета (рис. 1, *а*) с шаровидными фрагментами (рис. 1, *б*). Исследование кровяной муки под стереомикроскопом проводили без применения реактивов, при различных увеличениях.

Вид кровяной муки под биологическим микроскопом с применением объемного реактива – глицерина, при различных диапазонах увеличения в проходящем и поляризованном свете показан на рис. 2.

При рассмотрении под биологическим микроскопом в микропрепарате с глицерином кровяная мука имеет вид нерегулярных склеенных частиц темно-красного цвета. Кроме того, в кровяной муке при рассмотрении микропрепаратов, приготовленных из фракции осадка в глицерине, под биологическим микроскопом обнаружены фрагменты костей (рис. 3).

После проведения осаждения навески образца комбикорма согласно методике приготовлены микропрепараты с применением глицерина. При их рас-

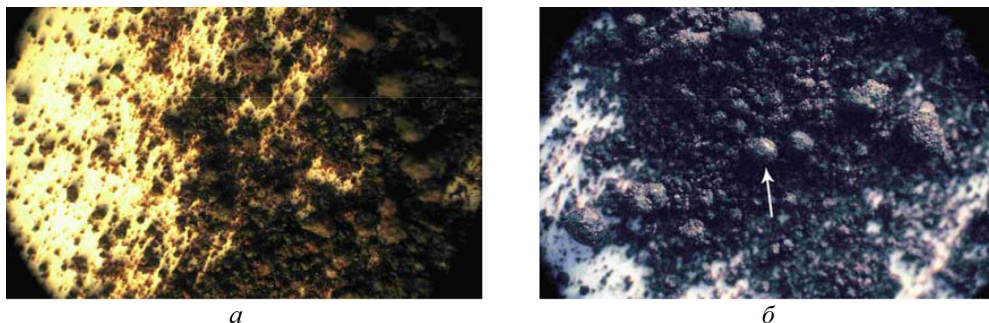


Рис. 1. Кровяная мука (стереомикроскоп): *а* – $\times 4$; *б* – $\times 7$ (стрелкой указан шаровидный фрагмент)

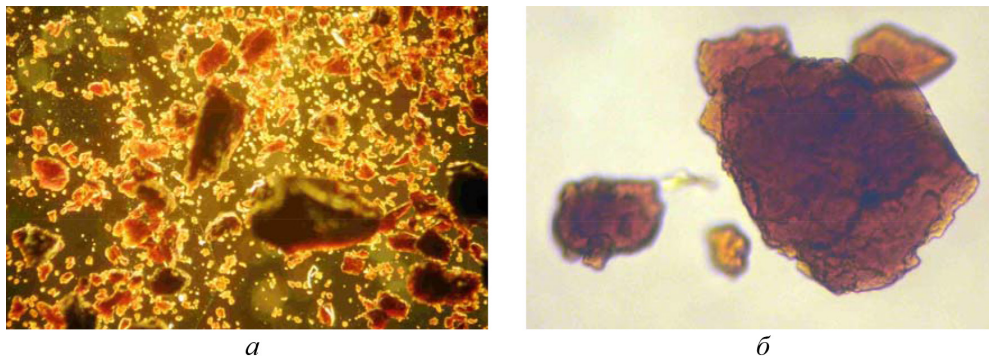


Рис. 2. Кровяная мука (биологический микроскоп; глицерин): *а* – $\times 10$; *б* – $\times 40$

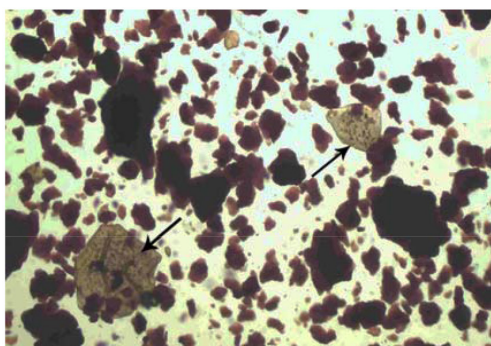


Рис. 3. Кровяная мука (биологический микроскоп, $\times 5$; стрелками указаны фрагменты костей млекопитающих)

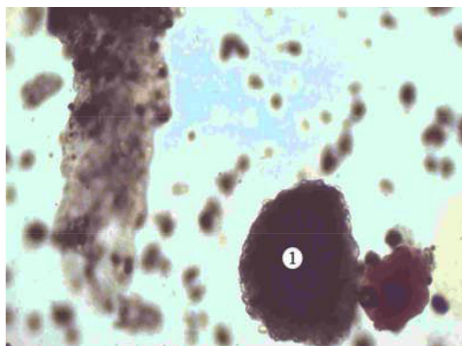


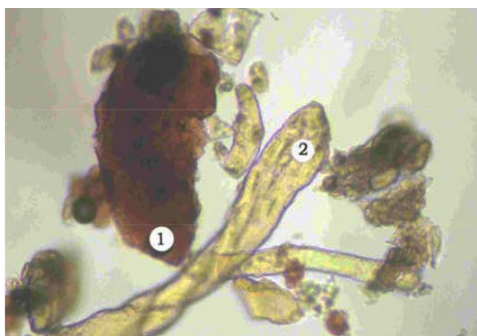
Рис. 4. Фрагменты кровяной муки в комбикорме (биологический микроскоп, $\times 10$, глицерин): 1 – фрагменты крови

смотрении под биологическим микроскопом с увеличением 10×10 в комбикорме обнаружены фрагменты кровяной муки (рис. 4).

Образец рыбной муки также был приготовлен согласно методике. При рассмотрении микропрепаратов с применением глицерина и различными увеличениями в проходящем свете обнаружены фрагменты кровяной муки (рис. 5). Кроме кровяной муки в поле зрения микроскопа видны фрагменты мышечных волокон рыб.

При исследовании фракции осадка рыбной муки с добавлением мясокостной муки жвачных в поле зрения микроскопа обнаружены фрагменты костей жвачных, которые отличаются от костей рыб разной формой и плотностью расположения остецитов и костных отростков (рис. 6). Кроме того, обнаружены роговые фрагменты (рис. 7).

Остециты жвачных округлые или овальные с короткими отростками, расположены одиночно. Эти исследования проводили с помощью объемного реагента – глицерина и реактива обесцвечивания – гидроокиси натрия, при различных диапазонах увеличения.



a



б

Рис. 5. Фрагменты кровяной муки в рыбной муке (биологический микроскоп; глицерин): *a* – $\times 20$; *б* – $\times 10$; 1 – фрагменты крови; 2 – мышечные волокна рыб

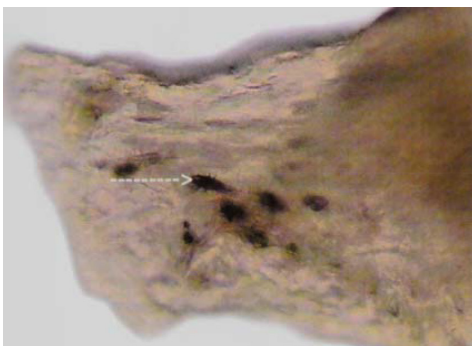


Рис. 6. Фрагмент кости КРС (×200; стрелкой указан остеоид с костными отростками)



Рис. 7. Роговые фрагменты КРС после термической обработки (стереомикроскоп, ×6,4)

Для получения достоверных результатов нами были исследованы по три микропрепарата каждой фракции, полученной после осаждения ($M \pm m$, $n = 3$). Во всех микропрепаратах обнаружены фрагменты крови и сделан вывод, что рыбная мука и комбикорм содержат в своем составе кровяную и мясокостную муку.

В дальнейшем для установления подтверждения сомнительных результатов и видовой принадлежности кровяной и мясокостной муки применяют метод полимеразной цепной реакции, основанный на выделении из корма специфической для определенного вида животных ДНК, ее амплификации с последующей идентификацией с помощью прибора АНК-32 в режиме «реального времени» и компьютерной обработки результатов.

Заключение

Метод микроскопической идентификации компонентов животного происхождения позволяет выявлять в составе рыбной муки и комбикормов мясокостную и кровяную муку, может применяться для выявления фальсификации кормов, имеет важное значение для предупреждения возникновения прионных инфекций у животных.

Литература

1. Ривак, Г. П. Комплексні дослідження рибного борошна на предмет його фальсифікації / Г. П. Ривак // Птахівництво : міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2013. – Вип. 69. – С. 276–281.
2. Мікроскопічна ідентифікація компонентів різного походження в кормах, кормових добавках та кормовій сировині : метод. рекомендації у вигляді ілюстр. каталогу / І. Я. Коцюмбас [та інш.] . – Львів : ТОВ «Видавчий дім «САМ», 2012. – 127 с.
3. Commission Regulation (EC) No 152/2009 of 27 January 2009 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed Text with EEA relevance // Official Journal L 054. – 26/02/2009. – P. 0001–0130.

4. Kwiatek, Krzysztof. Krajowy plan kontroli urzędowej pasz jako ważny element w systemie zapewnienia bezpieczeństwa surowców żywnościowych pochodzenia zwierzęcego / Krzysztof Kwiatek // Pasze przemysłowe. – Puławy, 2010. – № 10–12. – S. 29–33.

5. Kwiatek, Krzysztof. Przewodnik do metody mikroskopowej wykrywania przetworzonego białka zwierzęcego w środkach żywienia zwierząt / Krzysztof Kwiatek, Monika Przeniosło, Anna Weiner. – Puławy, 2004. – 58 s.

Поступила 31.05.2017 г.

УДК 619:616.993.192.66:636.7

Л. М. Соловьёва

КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА ДЕМОДЕКОЗА СОБАК

Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина

Введение

Демодекоз является одним из самых распространенных акарозов среди собак. Болезнь имеет преимущественно хроническое течение и трудно поддается лечению, поэтому приносит значительный ущерб. Пораженные клещами собаки являются источником распространения возбудителей и биогенной бактериальной микрофлоры. Рекомендующие лекарственные средства имеют токсическое воздействие на организм больных животных [1, 2, 5].

Согласно данным отечественных и зарубежных авторов, демодексы у собак являются симбионтами здоровой кожи, поэтому присущи более чем 60,0 % клинически здоровых животных. Их можно найти в виде отдельных особей у здоровых собак, потому демодекоз собак – это заболевание, возникающее в результате бурного размножения и расселения демодекозных клещей, что приводит к локальному или генерализованному воспалению кожи и сопровождается выпадением шерсти, образованием папул, пустул, утолщений и складок кожи, приводит к истощению, а иногда – к гибели животных [3].

Демодекозная инвазия собак в Украине имеет тенденцию к распространению. Этому способствует увеличение численности плотоядных животных в городах. Распространение инвазии сопровождается ухудшением общего состояния пораженных собак и клинической картиной болезни [4]. Поэтому изучение клинического проявления демодекоза как одного из показателей комплексной диагностики этого заболевания является актуальным.

Цель исследования – определить и изучить формы клинического течения демодекоза собак, а также провести анализ показателей гемоцитопоза крови больных собак.

Объектом исследований послужили 10 собак, пораженных возбудителями демодекоза, которые поступали на амбулаторный прием в лабораторию пара-

зитологии и межкафедральную лабораторию факультета ветеринарной медицины Белоцерковского национального аграрного университета, а также кровь и соскобы кожи от них.

Материалы и методы исследований

После клинического обследования проводили лабораторное исследование глубоких соскобов кожи животных, содержания пустул и показателей гемоцитопоза.

Кровь для исследования отбирали с латеральной подкожной вены передней конечности собаки утром до кормления. В крови определяли количество эритроцитов и лейкоцитов (меланжерным методом), содержание гемоглобина (гемиглобинцианидным методом), цветовой показатель.

Полученные результаты исследований обрабатывали с использованием методов вариационной статистики.

Результаты и их обсуждение

По площади поражения кожи различали локальную и генерализованную формы демодекоза собак. По характеру патологических изменений кожи в местах поражения выделяли чешуйчатую, папулезную, пустулезную и смешанную формы клинического течения демодекозной инвазии. Также отмечали пододемодекоз. Отодемодекоз не регистрировали. В условиях г. Белая Церковь чаще всего встречалась локальная форма демодекоза, ее доля в общей заболеваемости собак на данный акароз за 2015–2016 гг. составляла 88,37 % (38 собак). Генерализованная форма демодекозной инвазии диагностировалась только у 5 собак, что составило 11,63 % случаев. Локальная форма демодекоза характеризовалась образованием на коже головы или конечностей животных одной или нескольких четко ограниченных участков поражения. Такая форма демодекоза наблюдалась чаще у молодых собак, ее течение, как правило, доброкачественное. Генерализованная форма демодекоза характеризовалась значительным поражением кожи (как минимум пяти топографических участков тела животного), двух или всех конечностей. Течение такой формы демодекоза чаще злокачественное. Из 43 собак, больных демодекозом, у 25 (58,14 %) имела место чешуйчатая форма течения болезни, у 8 (18,6 %) – папулезная, у 7 (16,28 %) – пустулезная. Пододемодекоз диагностировали у 3 (6,98 %) больных собак. Итак, наиболее распространенной формой клинического течения демодекоза была чешуйчатая.

Следующей задачей нашего исследования было выяснение патогенного влияния демодексов на организм. Для этого исследовали клиническое состояние больных демодекозом собак и показатели гемоцитопоза.

Из обследованных нами собак в опыте было использовано 10 животных, больных демодекозом, следующих пород и возраста: 3 добермана-пинчера

(1, 1,5 и 2 года), стаффордширский терьер (5 лет), питбультерьер (4 года), 3 боксера (2, 4 и 6 лет), французский бульдог (1 год), беспородная (2 года).

У исследуемых собак течение демодекоза было в двух формах: чешуйчатой и пустулезной. Чешуйчатая форма является начальной формой заболевания. В основном поражалась кожа глазных дуг, губ, щек, спинки носа, шеи. Оставались резко очерченные округлые безволосые участки (аллопеции), бугорки, непигментированная кожа на них была синевато-красная, утолщенная и частично покрыта отрубевидными чешуйками. Случалось, что на коже появлялись трещины, из которых выделялась сукровица. В случае попадания в волосяные фолликулы секундарной микрофлоры (обычно стафилококков) развивалась пустулезная форма.

При пустулезной форме демодекоза у опытных собак на участках тела, покрытых пустулами, волосы выпадали, кожа была с толстыми складками, покрыта серыми или буроватыми корками и между складками приобретала интенсивный красный цвет. Образовавшиеся бугорки были заполнены продуктами воспаления и клещами. Через отверстия в них выделялось содержимое, которое засыхало. У животных отмечали неприятный запах. Как правило, был незначительный зуд.

Во время исследования показателей гемоцитопоза у больных демодекозом собак отмечали (см. таблицу), что при чешуйчатой форме изменений показателей крови, а именно эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина и цветового показателя не наблюдалось. По анализу показателей гемоцитопоза у больных демодекозом собак с пустулезной формой необходимо отметить тенденцию к уменьшению на 7,9 % содержания гемоглобина, 9,3 % – количества эритроцитов, что свидетельствует об угнетении эритропоэза вследствие интоксикации. Констатировали повышение в 1,3 раза (на 30 %) количества лейкоцитов, что свидетельствовало о воспалительных процессах в организме.

Показатели гемоцитопоза у больных демодекозом собак с чешуйчатой и пустулезной формой

Показатель	У здоровых собак		У больных демодекозом собак, $M \pm m$	
	норма	$M \pm m$	с чешуйчатой формой ($n = 6$)	с пустулезной формой ($n = 6$)
Гемоглобин, г/л	110–170	164,0 $\pm$ 3,9	161,34 $\pm$ 1,90	152,40 $\pm$ 1,80
Эритроциты, Т/л	5,5–8,5	6,5 $\pm$ 0,1	6,4 $\pm$ 0,3	5,9 $\pm$ 0,2
Лейкоциты, Г/л	8,5–10,5	9,5 $\pm$ 0,5	9,1 $\pm$ 0,3	12,4 $\pm$ 0,4
Цветовой показатель	0,8–1,2	1,00 $\pm$ 0,02	1,00 $\pm$ 0,03	1,00 $\pm$ 0,01

Выводы

1. Среди больных демодекозом собак по масштабу поражения кожи регистрировали локальную форму (88,37 %), а по характеру патологических изменений – чешуйчатую (58,14 %).

2. При чешуйчатой форме наблюдали такие клинические признаки демодекоза: кожный покров в местах поражения имел серо-голубой цвет, местами

с медным оттенком, шерсть была без блеска, ломкая, легко выпадала, местами отсутствовала в участках надбровных дуг, щек, губ, шеи. Кожа была сморщенной, утолщенной, с трещинами, покрыта слоем слущенных эпителиальных клеток, местная температура была повышена.

3. При пустулезной форме демодекоза находили сине-красные узелки, наполненные гнойно-кровянистым содержимым, в котором в большом количестве имелись живые клещи. В случае бактериальных осложнений наблюдалось появление пустул, из которых выделялись гной и кровь. Зуд был незначительный. У животных наблюдалось беспокойство.

4. При анализе показателей гемоцитопоза у больных демодекозом собак с пустулезной формой наблюдалась тенденция к уменьшению содержания гемоглобина и количества эритроцитов и повышение в 1,3 раза количества лейкоцитов.

Литература

1. Бензиор, Е. Руководство по демодекозу собак / Е. Бензиор, Д. Карлотти // Ветеринар. – 2000. – № 3. – С. 32–36.
2. Ginel, P. Демодекоз собак (на русском языке) / P. Ginel // Waltham Focus. – 1996. – Vol. 6, № 2. – Р. 2–5.
3. Ирнчук, В. В. Рекомендації з діагностики, лікування та профілактики демодекозу собак в умовах великого міста / В. В. Ирнчук // Одеський ДАУ. – Одеса, 2006. – 8 с.
4. Титаренко, А. М. Зміни гематологічних показників у собак, хворих на демодекоз, в залежності від клінічного прояву інвазії та при застосуванні акарицидних препаратів / А. М. Титаренко, В. Ф. Галат // Міжвідом. темат. наук. зб. – Вип. 85, т. II. – 2005. – С. 1067–1070.
5. Храпай, Н. Н. Демодекоз собак в условиях Черноморского побережья Краснодарского края (эпизоотология, патогенез, меры борьбы) : дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19 / Н. Н. Храпай. – М., 2001. – 134 с.

Поступила 27.04.2017 г.

УДК 619:616.995.132.6

Л. П. Артеменко¹, Н. В. Букалова¹, В. П. Гончаренко¹, О. Д. Небещук²

БИОЛОГО-ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА «УКРАИНСКИХ ШТАММОВ» *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS*

¹Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина

²Научно-исследовательский учебный центр диагностики
болезней животных, г. Киев, Украина

Введение

Глобальное значение паразитарных зоонозов, среди них – эхинококкоза (гидатидоза), влияние их на экономику и здоровье людей, признаны Всемирной организацией здравоохранения.

Род *Echinococcus* определил Rudolphi в 1801 г. Название рода состоит из двух греческих слов «*echinos*» и «*kokkos*», означающих «шип» и «ягода» соот-

ветственно. В настоящее время признаны четыре вида цепней рода *Echinococcus Rudolphi* (1801): *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786), *Echinococcus multilocularis* Leuckart (1863), *Echinococcus oligarthrus* (Diesing, 1863), *Echinococcus vogeli* Rausch et Bernstein. Круг хозяев для каждого вида эхинококков различен. Эхинококки последних двух видов встречаются значительно реже, чем остальные. Виды эхинококков отличаются между собой морфологически, как в половозрелой, так и личиночной стадиях. Описано значительное количество внутривидовых генотипов *Echinococcus granulosus*, которые имеют морфологические и биологические отличия, что позволяет, по мнению некоторых ученых, выделить отдельные виды. Однако другие исследователи утверждают, что их можно дифференцировать только по результатам анализа ДНК. Признано, что все четыре известных вида эхинококка опасны для человека.

Для развития *Echinococcus granulosus* необходимо наличие двух типов хозяев из числа млекопитающих. Окончательные хозяева – плотоядные животные, с фекалиями выделяют членики, наполненные яйцами или отдельные яйца паразита. Промежуточные хозяева – травоядные, всеядные, грызуны, насекомоядные, которые заражаются в результате заглатывания яиц эхинококков, в основном с кормом и водой. С помощью крючьев и секретов, онкосферы попадают в вены или лимфатические сосуды, а затем заносятся в печень, где большинство из них развиваются в ларвоцисты – преимущественно однокамерные пузыри, заполненные жидкостью, зачастую до нескольких десятков сантиметров в диаметре. Внутри материнской ларвоцисты могут развиваться дочерние и внучатые пузыри. Заболевание, которое вызывает личиночная стадия паразита, называется ларвальным эхинококкозом (гидатидозом). Стенка ларвоцисты состоит из трех оболочек: поверхностной – соединительнотканной, средней – кутикулярной и внутренней – герминативной (зародышевой). Особый интерес с биологической точки зрения представляет герминативная оболочка, которая производит на поверхность ларвоцисты пластинки кутикулы, а вовнутрь – выводковые капсулы и протосколексы. Когда клеточные элементы герминативной оболочки проникают между пластинами кутикулы, формируются вторичные экзогенные ларвоцисты.

В каждой выводковой капсуле содержится от нескольких десятков до ста протосколексов. Количество выводковых капсул в одной гидатиде эхинококка может достигать нескольких сотен.

Протосколексы, изолированные из полости ларвоцисты и выводковых капсул, имеют овальную форму длиной 0,14–0,15 мм и шириной 0,098–0,120 мм. Часто у крупного рогатого скота, реже у овец и свиней выводковые капсулы и сколексы отсутствуют. Такие ларвоцисты называются ацефалоцистами.

Окончательными хозяевами *Echinococcus multilocularis* являются плотоядные животные из семейства *Canidae* и *Felidae*. Однако, исходя из анализа результатов экспериментальных исследований, ученые-гельминтологи считают, что домашняя кошка, хотя и может заражаться альвеолярным эхинококком естественным путем, но происходит это редко, а поэтому этот вид животных

не играет существенной роли в эпидемиологии альвеолярного эхинококкоза, в то время как собака является «более облигатным» хозяином *Echinococcus multilocularis* по сравнению с кошкой. Из 10 видов хищников – окончательных хозяев этого вида цестод, повсеместно распространены: красная лисица, волк, корсак, шакал, енотовидная собака и некоторые другие. Общее количество промежуточных хозяев *Echinococcus multilocularis* достигает 61. Среди них 52 вида – грызуны, 5 видов – насекомоядные, 4 вида – приматы, в том числе и человек [2].

Нерешенным остается вопрос о роли домашних копытных в качестве промежуточных хозяев *Echinococcus multilocularis*. Нахождение некоторыми учеными псевдоальвеолярных цист у продуктивных животных объяснил Н. К. Слепнев [3], который считал, что они являются продуктом мутаций *Echinococcus granulosus*.

Изучение распространения эхинококкоза [1] у продуктивных животных в центральных областях Украины показало тенденцию к росту экстенсивности инвазии у свиней, и снижению ее у крупного рогатого скота и овец. Эхинококкоз продуктивных животных в Украине с ее большой территорией, имеющей различные климатические зоны, фауну и флору, имеет зональные особенности. В западном регионе эхинококками поражены в основном свиньи, тогда как у крупного и мелкого рогатого скота они встречаются значительно реже. В южном регионе этот вид инвазии регистрируют у продуктивных животных различных видов, но с преобладанием у овец и крупного рогатого скота.

Биологические особенности эхинококков в Беларуси («местные штаммы») изучали Н. К. Слепнев [5], М. И. Кузнецов [3], А. В. Зеньков. В экспериментах на овцах и свиньях, инвазированных яйцами эхинококков, полученных из цикла «свинья–собака», удалось заразить свиней, в то время как овцы имели крайне низкую степень инвазии. Эти и последующие опыты позволили сделать выводы о преимущественном распространении в Беларуси *Echinococcus granulosus*, адаптированного к организму собаки и свиньи.

В Украине Ю. Г. Артеменко [1] выявлены активно функционирующие циклы *Echinococcus granulosus*. По его данным, в Степной зоне возбудитель развивается в трех циклах – «собака–свинья», «собака–овца», «собака–крупный рогатый скот». В Лесостепной и Полесской зонах – преимущественно по схеме «собака–свинья». Слабо функционирующими являются циклы «собака–овца», «собака–крупный рогатый скот», поэтому в этих регионах у жвачных эхинококкоз регистрируют крайне редко. Таким образом, приведенные данные экспериментальных исследований и эпизоотологических наблюдений ученых свидетельствуют о неоднородности эхинококков вида *Echinococcus granulosus*. Выявление биолого-эпизоотологических особенностей важны для совершенствования мер борьбы с этим гельминтозом в различных климатогеографических зонах.

Одним из фрагментов нашей работы по изучению эхинококкоза в Украине и явилось дальнейшее изучение сроков развития возбудителя до имагинальной стадии у собак, зараженных протосколексами ларвоцист из печени свиньи, овцы и крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований

В опытах использовали 18 собак (кобелей) 7–8-месячного возраста. Перед началом проведения опытов собак дегельментизировали дронцитом (5 мг/кг живой массы) с последующим исследованием фекалий.

Для заражения собак использовали жизнеспособные протосколексы из пораженных ларвоцистами эхинококка печени свиньи, овцы и крупного рогатого скота. Собаки трех групп (по 6 голов в каждой) получали по 2 тыс. протосколексов из ларвоцист эхинококка животных разных видов.

Во второй серии опытов нас интересовал вопрос жизнеспособности протосколексов эхинококка, которых сохраняли различное время в ларвоцистах пораженных органов. Для этого ларвоцисты из пораженной печени крупного рогатого скота сохраняли при температуре 14–15 °С в течение 6 и 18 дней. После этого протосколексами паразита, извлеченными из ларвоцист, заражали пять интактных беспородных собак (кобелей 7–8-месячного возраста).

Трем собакам перорально задавали по 2,5 тыс. протосколексов 16-дневного срока хранения пораженных органов, а двум животным – такую же дозу протосколексов 5-дневного. Животных содержали в клетках на протяжении 65 дней, 2–3 раза в неделю фекалии исследовали на наличие яиц или члеников эхинококка.

В течение опыта (до выявления в фекалиях яиц) наблюдали за общим состоянием животных. Сроки эвтаназии подопытных животных составляли от 34 до 82 дней. Тонкий кишечник исследовали, предварительно перевязав его на 7–8 отрезков. Каждый из них вскрывали продольно. Содержимое помещали в стеклянный цилиндр и промывали теплой водой. Цестоды медленно отходили от слизистой и оседали на дно цилиндра. Для полного извлечения эхинококков слизистую оболочку кишок соскабливали шпателем, а затем соскоб несколько раз промывали водой. Осадок в чашках Петри просматривали под микроскопом, подсчитывая количество эхинококков.

Результаты и их обсуждение

Анализ результатов проведенных исследований свидетельствует, что приживаемость эхинококков в кишечнике собак, зараженных протосколексами из ларвоцист печени животных разных видов, была различной: более высокой (18,0 %) – от крупного рогатого скота, незначительно ниже (15,6 %) – овец, значительно ниже (8,2 %) – от свиней. Сроки достижения половозрелой стадии в организме собак составляли: при введении им протосколексов из ларвоцист печени свиньи – 52–58 дней; печени крупного рогатого скота – 44–48; печени овцы – 34–36 дней.

Во второй серии опытов у одного из трех животных, зараженных протосколексами из ларвоцист 18-дневного хранения, в кишечнике после эвтаназии были обнаружены половозрелые эхинококки. Другие животные, зараженные

протосколексами из ларвоцист печени крупного рогатого скота, срок хранения которых составлял пять дней, имели в кишечнике имагинальных гельминтов. Приживаемость паразитов была незначительной (6,3–7,1 %).

У шести кобелей в первой серии опытов наблюдали клинические симптомы эхинококковой инвазии, которые характеризовались слабостью, плохим аппетитом, периодическим расстройством функции кишечника: запоры, чередующиеся с поносами. У двух кобелей проявлялись симптомы нарушения функции ЦНС – эпилептические приступы, судороги.

Заключение

Изучением сроков развития *Echinococcus granulosus* в организме собак занимались многие исследователи. Анализ данных литературы показывает, что в разных климатогеографических зонах мира сроки развития возбудителя эхинококкоза различны. Это зависит от многих факторов: климатических особенностей местности; условий содержания и кормления животных; возраста, пола, породы собак, используемых в опытах. Однако нельзя сбрасывать со счетов также и вид промежуточных хозяев, от которых получен исходный материал для заражения окончательного хозяина.

Сроки достижения эхинококками инвазионной стадии в организме собак в различных зонах Украины и территориально соседствующих государств также неодинаковы.

Наряду с другими авторами (А. В. Зеньков, Н. К. Слепнев, В. Б. Ястреб и др.) наши данные подтверждают вывод о том, что эхинококк из цикла «собака–овца» в организме собак достигает имагинальной стадии раньше, чем происходящий из цикла «собака–свинья».

Представляют практический и теоретический интерес ранее опубликованные нами данные [1] и полученные нами результаты исследований о том, что протосколексы из ларвоцист эхинококков печени крупного рогатого скота имеют более высокую приживаемость в организме окончательного хозяина – собаки. Кроме того, приживаемость паразитов в значительной степени зависит от условий и сроков хранения пораженных ларвоцистами органов.

Литература

1. Артеменко, Ю. Г. Трихинеллез и эхинококкоз животных в Украинской ССР. Эпизоотология и меры борьбы : дис. ... д-ра вет. наук : 03.00.20 / Артеменко Юрий Григорьевич. – М., 1987. – 503 с.
2. Бессонов, А. С. Альвеолярный эхинококкоз и гидатидоз / А. С. Бессонов. – М., 2003. – 334 с.
3. Кузнецов, М. И. Эпизоотологические, биологические и морфологические отличия возбудителей эхинококкоза в Узбекистане и западных областях СССР / М. И. Кузнецов, В. П. Гуменщикова, В. Я. Шубадеров // Научные и прикладные проблемы гельминтологии. – М., 1978. – С. 193–199.

4. Слепнев, Н. К. Зараженность домашних животных *Echinococcus granulosus* larvae в Белоруссии / Н. К. Слепнев // Паразитарные болезни сельскохозяйственных животных : тез. докл. науч.-производ. конф. – Минск, 1972. – С. 14–15.

5. Слепнев, Н. К. К биологии *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) / Н. К. Слепнев // Тр. Белорус. науч.-исслед. вет. ин-та. – 1975. – Т. 13. – С. 113–116.

Поступила 18.05.2017 г.

УДК:619:616.995.122-084:633.2.033

В. В. Горчаков, Н. А. Гладкова, О. И. Захарова, Н. Н. Торопова

ПРОФИЛАКТИКА ФАСЦИОЛЁЗА: РАСТИТЕЛЬНЫЙ МОЛЛЮСКОЦИД НА ОСНОВЕ БАДАНА ТОЛСТОЛИСТНОГО

*ФГБНУ «Научно-исследовательский ветеринарный институт
Нечернозёмной зоны России», г. Нижний Новгород, Россия*

Введение

При изучении формирования очагов фасциолёзной инвазии на пастбищах Северо-Восточного региона Нечернозёмной зоны Российской Федерации отмечено, что численность промежуточных хозяев амфибийных моллюсков подрода *Galba* во временных биотопах с 2010 г. к 2012 г. восстановилась до 75,0 %, а их пораженность личинками *Fasciola hepatica* достигла 1,0 %. К осени 2013 г. популяция моллюсков в биотопах этого типа возросла выше [2] среднего уровня – до 147 экз/м², а инвазированность партенитами *F. hepatica* – до 2,0–3,0 %. Тенденция роста неблагополучия к 2013–2015 гг. отмечена и в других регионах Нечерноземья: в Удмуртской Республике, Московской и сопредельных, особенно в Калининградской области, где фасциолёз выявлен у коров – 37,0–50,0 %, овец – 39,0–80,0, пятнистых оленей – 67,4 % [4]. Это свидетельствует о том, что фасциолёзный цикл развития трематод способен противостоять аномальным изменениям погодных условий и в течение трех лет активизировать эпизоотический процесс. Установлено, что в ответ на применение синтетических и химических антгельминтиков у фасциол вырабатываются новые защитные механизмы резистентности на всех этапах биологического цикла развития. Во Франции в последние годы наблюдается рост инвазионной активности мирацидиев *Fasciola hepatica* в отношении моллюска *Lymnaea (Galba) truncatula*. Предполагается, что таким путём паразит пытается противостоять широкому применению для борьбы с фасциолёзом триклабендазола и других средств химиотерапии. В Сербии возникает потенциальный риск дальнейшего ухудшения ситуации в отношении географического распространения печёночной двуустки, активно занимающей новые территории [5].

Использование химических веществ в качестве моллюскоцидов является одним из эффективных приёмов пастбищной профилактики трематодозов, в частности фасциолёза. При этом достигается значительное сокращение численности моллюсков – промежуточных хозяев гельминтов, соответственно этому, и сокращается возможность заражения животных. При сдерживании популяции моллюсков ниже порога уровня экономической вредности теряется возможность возникновения острой формы фасциолёза [1]. Для разрыва биологического цикла фасциол наиболее доступным моллюскоцидом является сульфат меди (медный купорос). Однако, обладая значительной моллюскоцидной активностью, он не лишён ряда недостатков, ограничивающих масштабы его использования: высокотоксичен в отношении рыб, земноводных (лягушки, тритоны), гидробионтов и растительности, обладает кумулятивными свойствами и долго сохраняется в водоёмах. Остаточное моллюскоцидное действие хлористой и коллоидной меди в чистой воде продолжается до 16–25 месяцев, а в воде, содержащей органические вещества, – 6–19 месяцев. Медный купорос в сочетании с другими техногенными загрязнителями, скапливающимися на пастбищах вследствие промышленных выбросов, вполне обоснованно может усиливать токсическое воздействие и являться причиной отравлений у выпасающихся животных [1]. Более совершенными в плане экологических проблем охраны чистоты окружающей среды являются моллюскоциды не химического, а растительного происхождения как средства, малотоксичные для нецелевых объектов и не обладающие кумулятивными свойствами. В связи с этим выявление растений с такими свойствами является актуальным.

Материалы и методы исследований

Исследования выполнены в аквариальной лаборатории ФГБНУ «НИВИ НЗ России» и базовых хозяйствах Нижегородской области. Объектами исследования являлись пресноводные моллюски: *Lymnaea truncatula*, *L. subangulata*, *L. goupili* (промежуточные хозяева фасциолы обыкновенной); *L. ovata*, *L. peregra*, *L. stagnalis*, *L. palustris*, *L. auricularia* (промежуточные хозяева возбудителей трематодозов животных, птиц, рыб); *Planorbarius corneus*, *Planorbis planorbis* (промежуточных хозяев парамфистомат, эхиностомат) и растительный препарат из Бадана толстолистного – *Bergenia crassifolia* Fritsch, приготовленный фармакопейным способом.

Препарат использовали в форме порошка и экстракта, который готовили из корневища, корней, стеблей-цветоносов и листьев бадана. Порошок получали измельчением растительного сырья 20,0 %-ной влажности до частиц размером 1–3 мм, досушиванием до 12,0–14,0 %. Для получения водного экстракта навеску измельченного лекарственного сырья помещали в экстракционный аппарат, заливали расчётным количеством дистиллированной воды (соотношение сырья к экстрагенту – 1:(5–15)) с температурой 65–85 °С в зависимости от плотности сырья, настаивали в течение 16–48 ч при постоянном перемешивании,

нагревали до температуры 100 °С, отфильтровывали и выпаривали до содержания воды 1:1 или до сыпучей массы.

Для обработки пастбищ баданом толстолистным применяли маточные растворы и порошки, которые готовили в воде с температурой 65–80 °С. Дезинвазию пастбищ проводили в период активного состояния моллюсков – в конце мая (после спада талых вод) – июне или августе – начале сентября при температуре воды не ниже +14 °С и рН не выше 7,6. При более холодной погоде и щелочной реакции среды эффективность обработок резко понижалась. Обработку прудов проводили весной до заполнения их водой для зарыбления и при появлении моллюсков после зимовки, осенью после спуска прудов и облова. Препараты бадана на пастбище в места обитания моллюсков (лужи, заболоченные и прибрежные участки водоёмов, каналы, канавы, очаги, мочежины, ямы) и в ложе спущенного пруда вносили в форме маточного раствора с помощью опрыскивателя. Перед дезинвазией пастбищ и спущенных прудов прекращали внесение органических и минеральных удобрений, а выпас крупного рогатого скота на этих участках начинали после гибели моллюсков. Экспозиция составляла 5 сут.

В каждой серии лабораторных экспериментов использовали по 100 экз. определённого вида прудовиков или катушек. В полевых опытах численность лимнеид или планорбид в их естественных биотопах составляла от 25 до 158 экз/м². Исследования на моллюскоцидные свойства бадана толстолистного проводили по методике В. В. Горохова и В. С. Осетрова [1].

Изучение токсических $СК_{10}$, $СК_{50}$, $СК_{100}$ (на низших ракообразных, бентосе, земноводных, водной растительности), LD_{50} и LD_{100} (на 30 экз. белых 2,5–3,0-месячных мышей с массой тела самцов и самок 25–26 г и 30 экз. крыс обоего пола с массой тела 180–200 г) и кумулятивных $K_{кум}$ (на 10 экз. белых беспородных крыс-самцов с массой тела 180–200 г) свойств бадана толстолистного выполняли по стандартным методам [3].

Результаты и их обсуждение

Бадан толстолистный (*Bergenia crassifolia*) из семейства камнеломковых – многолетнее вечнозеленое травянистое растение. В диком виде места обитания этого растения: каменистые осыпи, долины рек, встречается в лесах Забайкалья, Якутии, на Алтае, в Туве, но окультуренное – широко произрастает в Европе. Цветёт ранней весной. Как наземные части растения, так и корневища содержат: углеводы – сахара – 7,0–8,0 %; дубильные вещества – 23,0–27,0 %; флавоноиды; много марганца, железа, меди; некоторые витамины, фитонциды, полифенолы, арбутин и смолы. Все растение обладает сильной фитонцидной активностью. Препараты бадана оказывают вяжущее, кровоостанавливающее, сосудосуживающее, противовоспалительное и антимикробное действие. В форме водного отвара или спиртовой настойки корневище бадана назначают животным внутрь при неспецифических гастроэнтероколитах, энтероколитах, алиментарной диспепсии, при кровавых поносах.

Экспериментальными исследованиями в лабораторных условиях выявлена выраженная моллюскоцидная активность водного экстракта и порошка из бадана толстолистного на пресноводных моллюсков (93,0–100,0 %) и их яйцекладки (84,0–100,0 %).

При изучении LD₅₀ и LD₁₀₀ растительного средства установлено, что двукратное внутрижелудочное и подкожное введение экстракта растения в максимальных возможных дозах не вызывало токсического влияния на организм теплокровных животных, что согласно классификации токсических веществ ГОСТ 12.1.007-76 относится к IV классу «малоопасные вещества». В результате изучения кумулятивных свойств бадана толстолистного при пероральном введении крысам K_{кум} составил более 3,5, т. е. превышал значение ≤ 1,0, и был охарактеризован как «препарат, не обладающий кумулятивными свойствами». Известно, что бадан толстолистный не содержит основных токсических растительных веществ: алкалоидов, сердечных гликозидов, циангликозидов, тиогликозидов, сапонин-гликозидов, гликоалкалоидов и фотосенсибилизирующих пигментов, щавелевой, пировиноградной, щавелевоуксусной и α-кетоглutarовой кислот.

Моллюскоцидная эффективность бадана толстолистного выявлена в производственных условиях на пастбищах и прудах (опыты 1–6).

Опыт 1. На пастбище в биотопы *Lymnaea truncatula* (0,41 га) при температуре воды 15,8–18,4 °C и pH 6,9–7,0 вносили экстракт бадана толстолистного в форме маточного раствора из расчёта 2,0 г/л. Отмечали гибель, %: моллюсков – 94, их кладок – 86.

Опыт 2. На пастбище в биотопы *Lymnaea truncatula* (0,48 га) при температуре воды 26,4–29,1 °C и pH 6,8–6,9 вносили экстракт бадана толстолистного в форме маточного раствора из расчёта 1,5 г/л. Отмечали гибель, %: моллюсков – 98, их кладок – 91.

Опыт 3. На пастбище в биотопы *Lymnaea agoupile* (0,23 га) при температуре воды 20,4–22,8 °C и pH 6,7–6,9 вносили порошок бадана толстолистного из расчёта 8,0–9,0 г/л. Отмечали гибель, %: моллюсков – 95, их кладок – 88.

Опыт 4. На пастбище в биотопы *Lymnaea asubangulata* (0,3 га) при температуре воды 25,6–28,4 °C и pH 6,9–7,0 вносили порошок бадана толстолистного из расчёта 7,0–8,0 г/л. Отмечали гибель, %: моллюсков – 97, их кладок – 90.

Опыт 5. На пастбище в биотопы *Lymnaea stagnalis*, *L. ovata*, *L. peregra*, *L. auricularia*, *Planorbis corneus*, *Planorbis planorbis* в мокрое ложе спущенного пруда (0,24 га) при температуре воды 16,8–18,3 °C и pH 7,0–7,1 вносили порошок бадана толстолистного из расчёта 25,0 г/м². Отмечали гибель, %: моллюсков – 93, их кладок – 84.

Опыт 6. В биотопы *Lymnaea auricularia*, *L. palustris*, *L. stagnalis*, *L. ovata*, *L. agoupile*, *Planorbis corneus*, *Planorbis planorbis* в мокрое ложе спущенного пруда (0,28 га) при температуре воды 25,4–28,5 °C и pH 6,8–7,0 вносили экстракт бадана толстолистного в форме маточного раствора из расчёта 2,5 г/м². Отмечали гибель, %: моллюсков – 100, их кладок – 100.

Таким образом, проведённые нами экспериментальные исследования показали, что экстракт и порошок бадана толстолистного обладают высокой моллюскоцидной эффективностью, что подтверждено в опытах 1–6 не только на чисто пресноводных видах (которые обитают только в воде) двух семейств моллюсков, но и на менее уязвимых, ведущих амфибийный образ жизни (могут переселяться из воды на влажные участки суши: *L. truncatula*, *L. subangulata*, *L. goupili*). Кроме того, бадан толстолистный оказывает воздействие 84,0–100,0 % и на потомство лимнеид и планорбид, безвозвратно останавливая эмбриональное развитие зародышей в яйцах кладок прудовиков и катушек. Выявлено комплексное губительное воздействие фитонцидов бадана толстолистного в сумме с дубильными веществами на вышесообщённые виды пресноводных моллюсков.

Заключение

На основании проведённых исследований установлено, что бадан толстолистный обладает моллюскоцидным действием, которое может быть использовано для дезинвазии небольших по гидрологическому режиму естественных водоёмов и открытых каналов мелиоративной сети на пастбищах, скотопрогонах, мест водопоя с целью уничтожения моллюсков – промежуточных хозяев возбудителя фасциолёза сельскохозяйственных животных, так как этот растительный препарат относится к малотоксичным соединениям и не вызывает побочных явлений у выпасающихся животных, не снижает их продуктивности, не обладает кумулятивными свойствами. Установлено, что применение моллюскоцидов с таким уровнем активности способно сократить заражённость животных (первого года выпаса) *Fasciola hepatica* в 10,0–14,0 раз, что позволяет использовать данный более экологически безопасный метод «как звено» для разработки новой системы профилактики фасциолёза.

Литература

1. Горохов, В. В. Моллюскоциды и их применение в сельском хозяйстве / В. В. Горохов, В. С. Осетров. – М. : Колос, 1978. – 224 с.
2. Особенности эпизоотологии фасциолёза крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Беларусь / М. В. Якубовский [и др.] // Эпизоотология. Иммунобиология. Фармакология. Санитария. – 2005. – № 4. – С. 28–34.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р. У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.
4. Современная эпизоотическая ситуация и прогноз по основным гельминтозам животных в России на 2015 год / В. В. Горохов [и др.] // Рос. паразитол. журн. – 2015. – № 1. – С 10–14.
5. Dreyfuss, G. *Fasciola hepatica*: the infectivity of cattle origin miracidia had increased over the past years in central France / G. Dreyfuss, P. Vignoles, D. Rondelaud // Parasitol Res. – 2007. – Vol. 101, № 4. – P. 1157–1160.

Поступила 08.06.2017г.

ПРОБЛЕМЫ РАЗРАБОТКИ СОВРЕМЕННЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

УДК 611.13-08:611.91:636

**Н. В. Зеленовский^{1,2}, М. В. Щипакин¹, К. Н. Зеленовский³,
А. В. Прусаков¹, С. В. Вирунен¹**

МЕТОД БИЛАТЕРАЛЬНОЙ РЕНТГЕНОГРАФИЧЕСКОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ СОСУДИСТОГО РУСЛА ОБЪЕМНЫХ ОРГАНОВ ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

¹ФГБУ УО «Санкт-Петербургская государственная академия
ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия

²ЧОУ ВО «Национальный открытый институт
г. Санкт-Петербург», г. Санкт-Петербург, Россия

³ООО «Научно-производственное предприятие «АВИВАК»,
д. Горбунки, Ломоносовский р-н, Ленинградская обл., Россия

Введение

Рентгенографическое исследование сосудистого кровеносного и лимфатического русел органов и тканей животных – одно из перспективных направлений ветеринарной морфологии. Однако оно сопряжено с рядом проблем. Одной из них является контрастная масса. Во-первых, она должна быть мелкодисперсной: твердые частицы в ней не должны превышать 8,0–10,0 мкм в диаметре. Благодаря этому масса может проникать в мелкие кровеносные (лимфатические) сосуды, включая звенья гемоциркуляторного русла. Во-вторых, масса через определенный промежуток времени должна затвердевать (коагулировать, свертываться, застывать). Это позволит проводить в дальнейшем препарирование кадаверного материала, извлекать органы или их части для последующего рентгенографического исследования. При этом масса не должна вытекать из поврежденных сосудов, «загрязняя» объект исследования [1, 2].

Вторая проблема – рентгенография объемных органов или частей тела позвоночных животных. В частности, это касается исследования сосудистого русла головы. Здесь располагаются как парные одноименные органы, включая крупные сосудистые коллекторы, так и непарные структуры. Во избежание наложения на рентгеновском снимке теней одноименных парных и непарных экстрамуральных артерий и вен, первые из них необходимо разделить в медианной плоскости, а вторые оставить целостными. Только в этом случае ангио-

рентгенограмма может быть правильно «прочитана», а для магистральных сосудов и их ветвей проведена морфометрия [3, 4].

Цель исследования – изготовить состав рентгеноконтрастной массы для проведения интраваскулярных инъекций кадаверного материала, отвечающей указанным выше задачам. Разработать метод билатеральной рентгенографической визуализации сосудистого русла объемных органов позвоночных на примере изучения артерий головы и шеи болотного бобра (нутрии) – *Myocastor coypus*.

Материалы исследования

Материалом для разработки инъекционной массы служил набор химреактивов: плюмбат свинца Pb_2PbO_4 , суммарная формула Pb_3O_4 (свинцовый сурик); оксид железа Fe_2O_3 , (железный сурик); скипидар живичный; спирт этиловый; хлороформ, коагулянты. Объектом исследования служил кадаверный материал болотного бобра (нутрии) – *Myocastor coypus*, полученный от клинически здоровых животных из фермерских хозяйств Ленинградской области.

Результаты и их обсуждение

Для изготовления инъекционной массы брали в равных объемах свинцовый и железный сурик. Полученный порошок смешивали с живичным скипидаром в соотношении 1:100. Затем в аппарате UIP1000hd проводили измельчение частиц до получения гомогенной массы. В полученную суспензию добавляли, спирт этиловый, хлороформ и коагулянт. Массу готовили *ex tempore*.

Подготовка кадаверного материала заключалась в следующем. Голову с шеей отделяли от туловища на уровне шестого межпозвонкового диска. Разогревали объект на водяной бане в течение 5 ч при температуре 45 °С. Промывку сосудистого русла проводили через общие сонные артерии подогретым физиологическим раствором. Процесс считали завершенным при истечении из яремных вен прозрачной жидкости, не содержащей сгустков крови.

Следующий этап работы заключался в лигировании крупных кровеносных сосудов дорсальной области шеи. Это наиболее ответственный и сложный этап работы: необходимо обнаружить и перевязать наиболее крупные ветви глубокой и поперечной шейных артерий.

Затем приступали к тампонированию позвоночного столба и поперечных каналов. Данная манипуляция обязательна, так как в поперечных каналах проходят достаточно крупные правая и левая позвоночные артерии, а в позвоночном канале располагается сеть кровеносных сосудов спинного мозга. Лигировать эти коллекторы не представляется возможным. Поэтому тампонирование – единственный способ перекрыть просвет этих сосудов.

Осуществив эти действия, приступали к катетеризации общих сонных артерий. Этот процесс, как правило, не вызывает затруднений. Катетер с достаточно

крупным диаметром (2–3 мм) вводили в просвет артерии глубоко (до середины шеи); лигируя его вместе со стенкой сосуда и подшивая к окружающим тканям (коже, вентральным мышцам шеи). Катетеризировали обе общие сонные артерии.

Все действия необходимо осуществлять «с ускорением», не допуская охлаждения кадаверного материала.

В дальнейшем приступали к инфузии сосудистого русла. Этот процесс осуществляли шприцем объемом 10–20 мл, подключая его к катетеру то справа, то слева. Качество инъекции оценивали по сосудам конъюнктивы, слизистой оболочке языка и артериям ушной раковины.

Кадаверный материал с инъецированным сосудистым руслом помещали в холодильную камеру при температуре 0 °С на двое суток для коагуляции контрастной массы.

Следующий этап – препарирование. Этот процесс требует от исследователя достаточно глубоких знаний анатомии и объемной синтопии органов изучаемого объекта.

Расположив объект в его естественном положении, в медианной плоскости рассекали кожу дорсальной поверхности головы и шеи по всей ее длине. Затем по межносовому, межлобному швам и медианной линии затылочной кости делали глубокий разрез. В области лицевой части головы разделяли носовую полость, достигая костного нёба. Рассечение мозгового черепа может вызвать затруднения, так как при этом необходимо разделить на две половины решетчатую и затылочную кости. Одновременно разделяли в медианной плоскости головной мозг, приближаясь к основанию черепа.

На следующем этапе приступали к препарированию органов шеи. В медианной плоскости разрезали дорсальные мышцы позвоночного столба, приближаясь к позвонкам. Парамедианно рассекали дужки позвонков, спинной мозг и тела позвонков вместе с вентральными мышцами. Таким образом обнажали пищевод с подлежащими трахеей и гортанью. Разрезали их вдоль в сагиттальной плоскости, не повреждая вентральных мышц шеи.

Затем возвращались к голове. В медианной плоскости с помощью пилы Джили разрезали твердое нёбо, мягкое нёбо и кости основания черепа.

Таким образом оказывались разделенными в медианной плоскости дорсальная часть головы (включая лицевой и мозговой черепа) и шея.

С помощью костных щипцов Листона разделяли мандибулы по нижнечелюстному шву. Не разрезая язык и органы межчелюстного пространства, разводили обе половины головы латерально. Таким образом, объект был готов для вазорентгенографии.

Рентгенографию проводили как на пленку, так и на электронную матрицу.

Следовательно, использованием разработанного нами состава рентгеноконтрастной массы для инъекции кровеносного русла и алгоритма препарирования достигается билатеральная рентгенографическая визуализация экстра-

муральных кровеносных коллекторов объемных органов позвоночных без наложения «теней» одноименных симметричных сосудов. Это позволяет правильно прочесть вазорентгенограмму и проводить морфометрию звеньев кровеносного русла.

Заключение

Вазорентгенография – один из наиболее информативных методов изучения сердечно-сосудистой системы животных. При этом исследование артериального, венозного или лимфатического русел объемных органов или частей тела позвоночных животных возможно при использовании составленной нами прописи рентгеноконтрастной массы и разработанного алгоритма препарирования.

Литература

1. Анатомия собаки / Н. В. Зеленовский [и др.]. – СПб. : ООО «ИКЦ», 2015. – 260 с.
2. Зеленовский, Н. В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура / Н. В. Зеленовский. – 5-я ред. СПб. : Лань, 2013. – 400 с.
3. Линденбрaten, Л. Д. Медицинская радиология (основы лучевой диагностики и лучевой терапии) / Л. Д. Линденбрaten, И. П. Королук. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 2000. – С. 77–79. – 672 с.
4. Шевченко, Б. П. Анатомия бурого медведя / Б. П. Шевченко. – Оренбург, 2003. – 454 с.

Поступила 14.04.2017 г.

УДК 619:57.083.3:636.[053:2]:612.65

Н. А. Верещак, А. П. Порываева, А. С. Красноперов, О. Ю. Опарина

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОЦЕНКИ СТРУКТУРНОГО СОСТАВА КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА У ТЕЛЯТ В ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

*ФГБНУ «Уральский научно-исследовательский ветеринарный институт»,
г. Екатеринбург, Россия*

Введение

Донозологическое исследование иммуноморфологического профиля телят от рождения до одномесячного возраста является одним из базовых критериев для характеристики адаптационных реакций популяции животных, районированных в биогеохимических провинциях зоны Урала.

Период раннего постнатального развития является важным этапом в формировании гемостаза у крупного рогатого скота. В организме новорожденного теленка происходят существенные физиологические и функциональные перестройки, связанные с адаптацией к новой среде обитания. В этот период

реализация основных регуляторных процессов, функционально связанных с постнатальным развитием нервной и эндокринной системы, осуществляется в основном через компоненты врожденного иммунитета [2–4]. Клетки фагоцитарного барьера – нейтрофилы и моноциты крови, тканевые макрофаги – индуцируют развитие реакций клеточного и гуморального звена адаптивного иммунитета. В центральном органе иммунитета – тимусе, активируется дифференцировка лимфоцитов-предшественников. Возрастает киллерная функция Т-лимфоцитов. В это же время В-лимфоциты увеличивают продукцию иммуноглобулинов и становятся более чувствительными к антиген-презентирующим клеткам [4, 5].

Сбалансированное развитие компонентов иммунитета в постнатальный период обеспечивает полноценную клеточно-гуморальную регуляцию физиологических функций в онтогенезе [2, 3]. Полноценная реализация генетически обусловленного гемостаза существенно влияет на адаптационный потенциал, продуктивное и репродуктивное здоровье, как индивида, так и популяции в целом. Изучение структурного состава клеточного звена иммунитета у телят в раннем постнатальном периоде имеет важное прогностическое значение для оценки развития и функционирования организма.

Цель исследования – изучить структурный состав клеточного звена иммунитета у телят в раннем постнатальном периоде.

Материалы и методы исследования

Исследование выполнено в рамках направления 160 Программы ФНИ государственных академий наук на 2013–2020 годы по теме «Разработать научно обоснованную систему диагностики, профилактики и лечения незаразных болезней сельскохозяйственных животных и получения биологически полноценной и безопасной продукции животноводства» (№ 0773-2014-0013) в лаборатории иммунологии и патобиохимии ФГБНУ Уральского НИВИ.

Объектом исследования являлись новорожденные телята до однемесячного возраста. Первую порцию молозива телята получали через 1,0–1,5 ч после рождения; с 1-х по 3-и сутки жизни – каждые 4 ч; на 4–6-е сутки – каждые 12 ч.

Отбор образцов крови проводили в утренние часы из яремной вены в 1-е сутки после рождения, на 7-е и 28-е дни жизни. Гематологические показатели определяли на анализаторе Abacus Junior Vet фирмы «Diatron» (Австрия) с использованием стандартного набора реактивов для гематологического анализатора производства фирмы «Diatron» (Австрия). Лейкоцитарную формулу подсчитывали в мазках крови, окрашенных по Романовскому–Гимзе. Учет результатов проводили визуально на микроскопе Micros (Австрия).

Фагоцитарную активность (ФА) нейтрофилов и моноцитов крови проводили по стандартной методике; функциональную активность нейтрофилов и моноцитов оценивали по фагоцитарному индексу (ФИ); определение содержания Т- и В-лимфоцитов в крови телят проводили в реакции спонтанного розетко-

образования с модификации П. Н. Смирнова с соавторами [1]. Учет результатов проводили визуально на микроскопе Micros (Австрия).

Статистический анализ результатов исследования проводили на PC Pentium с помощью программ «Statistica 6.0», Microsoft Excel 2007.

Результаты и их обсуждение

Гематологические исследования показали, что у телят при рождении в клеточном составе белой крови преобладают нейтрофилы, моноциты и эозинофилы – до 67,3% от общего числа клеток, содержание лимфоцитов – в 2,0 раза меньше. Абсолютное количество нейтрофилов составляет $6,6 \pm 0,78 \cdot 10^9/\text{л}$; моноцитов/эозинофилов – $0,3 \pm 0,10 \cdot 10^9/\text{л}$, из них способностью к фагоцитозу (ФА) обладает в среднем $24,6 \pm 1,65 \%$ клеток. В лимфоцитарной фракции преобладают Т-клетки ($1,38 \pm 0,18 \cdot 10^9/\text{л}$).

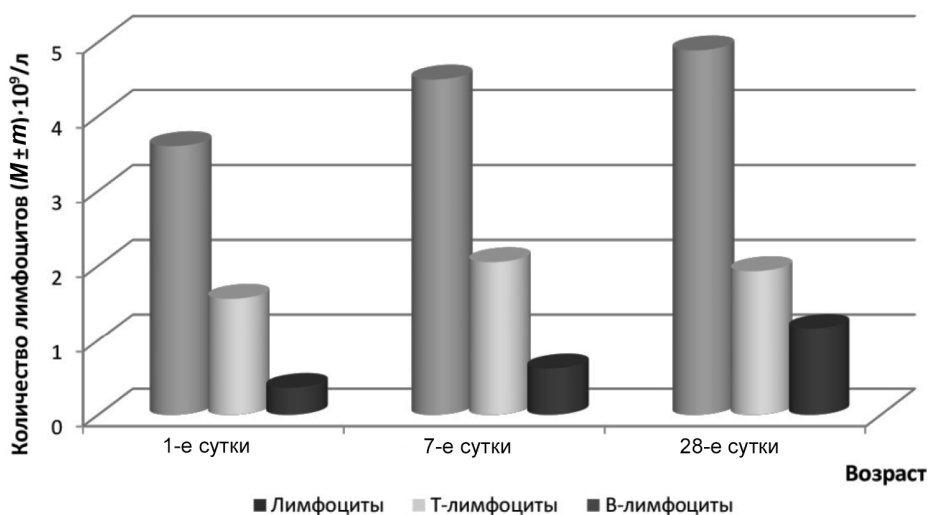
Достоверные изменения в структурном составе клеточного звена иммунитета отмечалось к 28-м суткам жизни. В крови животных увеличивалось процентное содержание лимфоцитов – в 1,48 раза (с 32,7 % при рождении – до 55,1 %), но снижалось общее количество моноцитов и эозинофилов – в 5,0 раз (с $0,30 \pm 0,10 \%$ при рождении до $0,06 \pm 0,01\%$ к 28-м суткам) и нейтрофилов – в 1,7 раза. Установленные нами изменения в клеточном составе белой крови у телят в ранний постнатальный период свидетельствовали о перестройке миело- и лимфопоэза в соответствии с возрастной стратегией развития функционально-физиологических процессов в центральных и периферических органах иммунной системы.

Исследование клеточного звена врожденного иммунитета показало, что у телят в 1-е сутки после рождения способностью к фагоцитозу (ФА) обладало в среднем $24,6 \pm 1,65 \%$ нейтрофилов и моноцитов крови, с фагоцитарным индексом $2,17 \pm 0,14$ у. е. На 7-е сутки жизни животных способность к фагоцитозу была выявлена у $36,2 \pm 1,75 \%$ клеток, однако фагоцитарный индекс (ФИ) существенно не отличался от показателя в 1-е сутки, но к 28-м суткам фагоцитарный индекс увеличился в среднем на 25,0–26,0 % (см. таблицу).

Возрастные изменения показателей фагоцитоза у телят ($n = 14$)

Показатель	День жизни		
	1-й после рождения	7-й	28-й
Фагоцитарная активность, % фагоцитирующих нейтрофилов	$24,60 \pm 1,65$	$36,20 \pm 1,75$	$28,20 \pm 2,12$
Фагоцитарный индекс, количество поглощенных м. т.	$2,17 \pm 0,14$	$2,13 \pm 0,10$	$2,68 \pm 0,14$

Низкая эффективность фагоцитарной функции нейтрофильных и моноцитарных клеток крови, по всей вероятности, обусловлена сниженным хемотаксисом и несовершенством внутриклеточных механизмов бактерицидности у телят первого месяца жизни. Фагоцитарная активность нейтрофилов у телят



Содержание Т- и В-лимфоцитов в крови у телят в зависимости от возраста (n = 14)

составляла от 38,8 до 46,7 % уровня взрослых животных, а фагоцитарный индекс – от 30,6 до 38,6 %.

Определение содержания Т- и В-лимфоцитов в крови показало, что у новорожденных телят в первую неделю их жизни преобладают Т-клетки (см. рисунок). Достоверное увеличение содержания В-лимфоцитов зарегистрировано на 28-е сутки ($p < 0,05$).

Проведенные исследования клеточного звена иммунитета у телят в первый месяц жизни показали, что критическим периодом в постнатальном развитии является первая неделя. Этот период характеризуется наиболее низким уровнем защищенности, который обусловлен неэффективным функционированием иммунной системы новорожденного, нейрогуморальными и структурно-физиологическими перестройками в органах иммунитета. Тем не менее именно в этот критический период происходят события, обеспечивающие сохранение морфофункциональных свойств и функций органов иммунной системы, сбалансированности главных ее звеньев [2, 3, 5]. Наши исследования подтверждают, что одними из факторов, запускающих механизмы регуляции становления и развития специфических и неспецифических иммунных процессов у телят, являются нейтрофилы, моноциты, макрофаги, а также содержащиеся в молозиве и молоке специфические молекулы и иммунокомпетентные клетки коровы-матери [3, 4]. Процессы развития и становления звеньев иммунной системы происходят одновременно, и определить ведущую «пусковую единицу» не представляется возможным. Так известно, что микробная стимуляция клеток врожденного иммунитета – нейтрофилов, моноцитов, макрофагов осуществляется через мембранные рецепторы CD_{14}^+ и Toll-like [4, 5]. Активированные таким образом клетки врожденного иммунитета ин-

дуцируют дифференцирование незрелых Т-лимфоцитов в эффекторные CD_{14}^{+} и CD_8^{+} клетки, что, в свою очередь, запускает процессы преобразования В-лимфоцитов новорожденного в плазматические клетки, способные продуцировать IgA и IgG. Однако процессы дифференцирования Т- и В-клеток стимулируются клетками и молекулами иммунной системы, которые содержатся в молозиве и молоке [3, 4]. Мы считаем, что зарегистрированные изменения в составе лейкоцитарной фракции крови и функциональных характеристик клеточного звена иммунитета у телят на 7-е сутки жизни отражают структурно-функциональное развитие иммунной системы в постнатальный период.

Заключение

Изучение структурного состава и функциональных особенностей клеточного звена иммунитета у телят в раннем постнатальном периоде (1-я неделя жизни) имеет важное прогностическое значение для оценки развития и функционирования организма животного в критический период.

Донозологическое исследование иммуноморфологического профиля молодняка крупного рогатого скота в возрасте одного месяца является одним из базовых критериев для характеристики адаптационных реакций популяции животных, районированных в биогеохимических провинциях зоны Урала.

Литература

1. Панель наиболее информативных тестов для оценки резистентности животных / П. Н. Смирнов [и др.] ; ФГОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет», Россельхозакадемия, Сиб. отд-ние, ГНУ ИЭВСиДВ ГНУ ВИЭВ. – Новосибирск, 2007. – 40 с.
2. Физиологические особенности животных в районах техногенного загрязнения / И. М. Донник [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 1. – С. 21–22.
3. Шкуратова, И. А. Ветеринарно-санитарные аспекты профилактики болезней молодняка крупного рогатого скота в современных промышленных комплексах / И. А. Шкуратова, Е. Н. Шилова, О. В. Соколова // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2015. – № 3 (15). – С. 60–63.
4. Homeodomain only protein is required for the function of induced regulatory T cells in dendritic cell-mediator peripheral T cell unresponsiveness / D. Hawiger [et al.] // Nat. Immunol. – Vol. 11, № 10. – 2010. – P. 962–968.
5. Schmidt, S. V. Regulatory dendritic cells: there is more than just immune activation / S. V. Schmidt, A. C. Nino-Castro, J. S. Schultze // Front. Immunol. – № 3. – 2012. – P. 274.

Поступила 31.05.2017 г.

А. П. Лысенко, В. В. Власенко, Е. Л. Красникова, Хунлян Ван

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ТЕРМИЧЕСКОГО ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ МОЛОКА
КОРОВ, РЕАГИРОВАВШИХ НА ТУБЕРКУЛИН,
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ ОБНАРУЖЕНИЯ
CWD ФОРМ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА**

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышеслесского»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Методы обнаружения микобактерий туберкулеза (МБТ) разрабатывались в конце XIX – начале XX в. во время катастрофического распространения и превалирования тяжелых форм этого заболевания, поэтому вполне закономерно сложился «золотой стандарт» диагностики – выделение патогенных кислотоустойчивых палочек МБТ. Однако почти сразу после открытия возбудителя болезни было обнаружено, что МБТ могут менять форму, терять кислотоустойчивость, резко снижать патогенность [1, 4]. Измененные (трансформированные) формы МБТ настолько отличались от типичных кислотоустойчивых палочек, что по фенотипическим признакам их было трудно отнести даже к роду *Mycobacterium*, поэтому из-за отсутствия точных методов идентификации, несмотря на достаточно широкие исследования, отношение к проблеме изменчивости МБТ долго оставалось скептическим. В то же время пандемия туберкулеза вызывала необходимость бороться с типичным возбудителем и массовым проявлением заболевания, не обращая внимания на феномен изменчивости МБТ.

Санитарные меры, применение вакцины БЦЖ, появление эффективных химиотерапевтических средств настолько снизили заболеваемость, что даже предполагалось полное искоренение туберкулеза. Однако, несмотря на оптимистические прогнозы, эта проблема осталась актуальной и в XXI в. Это связано не только с относительно высоким уровнем заболеваемости, но и с распространением латентной (скрытой) туберкулезной инфекции, при которой в организме присутствуют МБТ, но заболевание не развивается [1, 3, 4].

При латентной туберкулезной инфекции МБТ персистируют преимущественно в виде трансформированных (измененных) форм, возникающих в результате адаптации к неблагоприятным условиям [1, 3, 4]. Механизмы трансформации изучены недостаточно, но известно, что у МБТ меняется структура клеточной стенки, появляются лишенные клеточной стенки L- и формы с ригидной, но «дефектной» клеточной стенкой (cell wall deficient – CWD) [3, 4]. Обнаружить CWD формы МБТ с помощью общепринятых бактериологических

методов, почти невозможно, поэтому они выпадают из поля зрения исследователей. Один из путей решения проблемы – применение стимуляторов роста и специальных питательных сред (ВКГ, Влакон, Мусселл DW), позволяющих выделить CWD МБТ [1, 7]. Для этого исследуемый материал инкубируют в стимуляторе роста (24–48 ч) и высевают на питательную среду, на которой колонии CWD МБТ появляется уже через 2–5 сут. [1, 7].

Использование стимуляторов роста и специальных сред позволило обнаружить ряд неизвестных свойств МБТ, в частности их уникальную термостабильность [7]. Это представляет интерес не только с точки зрения использования туберкулинов, но и в связи с эффективностью термического обеззараживания молока. Известно, что больные туберкулезом коровы выделяют МБТ с молоком. До начала внедрения пастеризации в 1920–30-х годах до 30,0 % случаев заболевания человека были вызваны МБТ бычьего вида. В настоящее время, благодаря термическому обезвреживанию молока, случаи туберкулеза человека, вызванные *M. bovis* – единичны. Вместе с тем, несмотря на относительное благополучие по туберкулезу крупного рогатого скота, выявляется значительное количество коров, реагирующих на туберкулин. Только в Великобритании в последнее десятилетие ежегодно выделяли порядка 30 000 туберкулинпозитивных животных, от которых до момента сдачи на убой, могло быть получено не менее 50 тыс. т молока. Безусловно, все молоко подвергается термическому обеззараживанию. Считается, что 10-минутное кипячение, пастеризация 5 мин при температуре 90 °С или 30 мин при температуре 85 °С полностью убивает МБТ в молоке. Однако эти данные были получены с помощью общепринятых бактериологических методов относительно типичных МБТ.

Цель исследования – изучить эффективность термического обеззараживания молока туберкулинпозитивных коров с использованием методов детекции CWD форм микобактерий туберкулеза.

Материалы и методы исследований

Исследовали 24 пробы крови и молока коров, реагировавших на туберкулин. ДНК выделяли из стабилизированной крови и осадка молока после центрифугирования. Пробы в лизирующем буфере 5 мин прогревали при температуре 95 °С. ДНК выделяли на аффинных колонках (ИБОХ НАНБ). Амплификацию проводили с праймерами 16s RNA (*Mycobacterium*) и MPB 70 (комплекс *tuberculosis-bovis*) на C1000TM ThermoCycler (BioRad). Амплификаты детектировали в 2,0 %-ном агарозном геле (Sigma). Результаты учитывали на Molecular Imager GelDoc™ XR+ (BioRad).

Для бактериологического посева использовали стимулятор роста «Мусселл DW» (с 0,15 %-ным хлоргексидином), стимулятор роста ВКГ «Ганза» и питательную среду «Мусселл DW». Пробы были объединены в три пула крови и три пула молока (см. таблицу). Пулы молока трехкратно прогревали до закипания,

смешивали со стимулятором роста «Mycell DW» (1:2) и после 24 ч инкубации при температуре 37 °С высевали на среду «Mycell DW».

Мазки изолятов окрашивали дифференцирующим иммунопероксидазным методом (ДИП) [7].

Результаты и их обсуждение

В ПЦР в 18 пробах крови и молока (75,0 %) обнаружена ДНК *M. Tuberculosis* – *M. bovis* (см. таблицу).

Пулы молока были 3,0 раза нагреты до кипения. После инкубации в стимуляторе роста и посева на среду «Mycell DW» негретых пулов крови и кипяченого молока через двое суток в посевах всех пулов крови и молока стал заметен тонкий налет – «газон». После его пересева через двое суток отмечен сплошной рост прозрачных колоний.

Результаты исследования крови и молока коров, реагирующих на туберкулин

№ п/п	ПЦР с кровью		Посев пулов крови, ПЦР изолята	ПЦР с молоком		Посев пулов молока после прогрева при 100 °С,
	16sRNA	MPB 70 tuberculosis-bovis		16sRNA	MPB 70 tuberculosis-bovis	
1	+	+	Пул 1 Рост +++ ПЦР 16sRNA+ MPB 70+	+	+	Пул 1 Рост +++ ПЦР изолята 16sRNA+ MPB 70+
2	+	+		+	+	
3	+	+		+	+	
4	+	+		+	+	
5	+	+		+	+	
6	+	+		+	+	
7	±	+		+	+	
8	+	+		+	+	
9	+	+	Пул 2 Рост +++ ПЦР 16sRNA+ MPB 70+	+	+	Пул 2 Рост +++ ПЦР изолята 16sRNA+ MPB 70+
10	+	+		+	+	
11	+	+		+	+	
12	+	+		+	+	
13	–	–		–	–	
14	+	+		+	+	
15	–	–		–	–	
16	–	–		–	–	
17	+	+	Пул 3 Рост +++ Не исследовали	+	+	Пул 3 Рост +++ ПЦР 16sRNA+ MPB 70+
18	–	–		–	–	
19	+	+		+	+	
20	+	+		–	–	
21	+	+		+	+	
22	–	–		–	–	
23	–	–		–	–	
24	+	+		+	+	

При ДИП окраске мазков клетки изолятов окрашивались в коричневый цвет. Это указывало на то, что они реагировали с антителами к антигенам типичных МБТ. Изоляты имели характерную для CWD форм МБТ морфологию (биполярные длинные и короткие палочки, длинные и короткие зернистые палочки, длинные и короткие «пустые» палочки, веретенообразные и колбоподобные клетки). ДНК изолятов из крови и кипяченого молока в ПЦР дала положительную реакцию с праймерами 16sRNA (род *Mycobacterium*) и с праймерами MPB70 (*tuberculosis-bovis* комплекс).

Для подтверждения термостабильности изолятов их суспензии прогрели 10 мин при температуре 100 °С на термостате Biosan CH100. После этого они были смешаны со стимулятором роста ВКГ (1:2), 24 ч инкубированы при температуре 37 °С и посеяны на среду «Mycell DW». Часть суспензии изолята из крови пула 2 перед посевом была дополнительно подвергнута стерилизующей фильтрации через фильтр Millex®GP 0,22 мкм. Через трое суток в посевах суспензий гретьх изолятов из крови и молока был получен рост колоний. В посевах фильтрата изолята из крови через трое суток роста не обнаружено. Через шестеро суток проведен пересев придонной жидкости. На седьмые сутки в пересеве появился «газон». Через 12 суток в пробирках начального посева фильтрата также стал заметен «газон». Его пересев дал через одни сутки интенсивный рост колоний CWD форм МБТ.

Заключение

Обнаружение ДНК МБТ в крови и в молоке свидетельствовало о том, что реакции на туберкулин у коров из условно благополучного стада были связаны с латентной туберкулезной инфекцией. Это было подтверждено выделением из крови CWD форм МБТ. Несмотря на то, что при убое животных не было обнаружено видимых туберкулезных изменений, они выделяли МБТ с молоком.

Особенностью методики бактериологического исследования является то, что если в материале присутствуют типичные МБТ, на питательной среде вырастают CWD формы [1, 7]. В связи с этим нельзя сделать вывод, что в типичной или CWD форме МБТ находились в крови и в молоке, однако однозначно, они сохраняли жизнеспособность после трехкратного кипячения инфицированного молока. Это значит, что МБТ выдерживали гораздо более сильное воздействие, чем при известных режимах термической обработки молока. Более того, CWD МБТ, выделенные из кипяченого молока, выдерживали 10 мин прогревание при 100 °С. И это не предел устойчивости, ведь по ранее полученным данным, CWD МБТ были выделены из туберкулинов, при получении которых применяют нагрев до 121 °С в течение 30–60 мин [7].

Известно, что инфицированное МБТ молоко после термической обработки не вызывает заболевания туберкулезом. Под действием высокой температуры вегетативные клетки погибают, но успевают образовать защитные формы, природа которых не совсем ясна. Вместе с тем уже известно, что они способны

восстанавливать жизнеспособность в виде CWD форм не только *in vitro*, но и при попадании в организм хозяина [7].

Недавно у МБТ были обнаружены спороподобные термостабильные формы несколько меньшего размера, чем вегетативные клетки [6], а также формы, сопоставимые по размеру с вирусами [5]. Наши опыты подтвердили существование фильтрующихся форм МБТ. Посев фильтрата гретого изолята из крови дал рост CWD МБТ, хотя визуально заметные колонии появились гораздо позже, чем при посеве гретой суспензии изолята. Результаты исследований однозначно показали, что кипячение и, следовательно, пастеризация полностью не обеззараживают молоко инфицированных (туберкулинпозитивных) коров. Оно содержит защитные формы МБТ, способные восстанавливать жизнеспособность в виде CWD МБТ при попадании в организм потребителя [7]. Необходимо отметить, что CWD МБТ не вызывают типичного заболевания, но они способны пожизненно персистировать в организме хозяина [3, 4]. Их потенциальную опасность связывают не только с вероятностью реверсии [4], но и с тем, что они могут стать возможными причинами возникновения опухолей, заболеваний центральной нервной и сердечно-сосудистой систем, сахарного диабета, саркоидоза, болезни Крона [1–4, 7].

Установление факта сохранения жизнеспособности МБТ после термической обработки молока туберкулинпозитивных коров, пусть даже в виде защитных форм, ставит целый ряд проблем обеспечения биологической безопасности и вызывает необходимость дальнейших исследований.

Литература

1. Власенко, В. В. Туберкулез в фокусе проблем современности / В. В. Власенко. – Винница : Наука, 1998. – 350 с.
2. Clinical End-Points Associated with *Mycobacterium tuberculosis* and Lung Cancer: Implications into Host-Pathogen Interaction and Coevolution / Y. S. Tian [et al.] // BioMed Research International. – 2015. – Vol. 2015. – 9 p.
3. Guliang, H. Mycobacterium tuberculosis L-forms / H. Guliang, L. Tefu // Microbial Ecology in Health and Disease. – 1999. – Vol. 10. – P. 129–133.
4. Mattman, L. H. Cell Wall Deficient Forms: Stealth Pathogens / L. H. Mattman. – 3rd ed. – Boca Raton : CRC Press, 2001. – 416 p.
5. Slavchev, G. Stress-induced L-forms of *M. bovis*: challenge to survivability / G. Slavchev, L. Michailova, N. Markova // New Microbiologica. – 2013. – Vol. 36. – P. 157–166.
6. Sporulation in mycobacteria / J. Ghosh [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2009. – Vol. 106, № 26. – P. 10781–10786.
7. The tuberculin skin test: how safe is safe? The tuberculin contains unknown forms capable of reverting to cell-wall-deficient mycobacteria / A. P. Lysenko [et al.] // Clinical and Experimental Medical Sciences. – 2014. – L. 2, № 1–2. – P. 55–73.

Поступила 02.06.2017 г.

М. И. Черник, Ю. И. Тяпша, О. В. Дубаневич, О. Л. Гуринович

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕКЦИЯ ГЕНОМА *ASCOSPHERA APIS* – ВОЗБУДИТЕЛЯ АСКОСФЕРОЗА ПЧЕЛ

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

Введение

Благодаря хорошей приспособляемости к различным условиям внешней среды микроскопические грибы успешно выдерживают конкуренцию с другими микроорганизмами. Известно более 500 тысяч видов микроскопических грибов, преимущественно сапрофитов. Около 50 видов являются строго патогенными в том числе *Ascosphaera*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Aspergillus* и др. [4, 5].

Стрессовые факторы (экстремальные температуры, высокая влажность, загрязнение окружающей среды пестицидами, антибиотики, паразитарные инвазии) вызывают снижение резистентности организма насекомого, подавляя иммунную систему и нарушая защитные барьеры оболочек тела, пищеварительного тракта, трахей, способствуют развитию грибковых инфекций пчел [3].

Значительное распространение получил аскосфероз (*Ascosphaerosis*) пчел – инфекционная болезнь пчелиных семей, вызываемая грибом *Ascosphaera apis*, характеризующаяся поражением трутневых, пчелиных личинок и куколок, в редких случаях – маточных личинок. К заражению *Ascosphaera apis* чувствительны яйца, личинки и куколки, но в лабораторных условиях воспроизвести заражение яиц и куколок не удалось. Синонимы: перицистомикоз, перицистоз, известковый расплод, меловый расплод, сухой гнилец. Возбудитель аскосфероза пчел характеризуется как «приспосабливающийся» патоген.

Не всегда визуально можно диагностировать данное заболевание, а по культурально-морфологическим свойствам выделяемых культур грибов не каждый раз удается провести точную идентификацию выросшей культуры, при этом данный метод является длительным по времени.

Идентификация отдельных видов *Ascosphaera* на основе морфологических признаков затруднительна из-за отсутствия четких отличительных признаков. Большинство идентификаций основано на размере и форме споровых шаров, спор и конидий. Кроме того, некоторые виды *Ascosphaera* не создают плодовые тела *in vitro*, что затрудняет их идентификацию [5].

В связи с этим для предотвращения распространения инфекции желательна ранняя диагностика. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) позволяет проводить быструю (в течение 5 ч) детекцию генома возбудителя (*Ascosphaera apis*) как в организмах, так и в объектах окружающей среды из изначально

малого количества исследуемого материала, например, при пересылке маток, пакетов пчел из неблагополучных пасек, кормлении пчел пыльцой или белковой пастой, изготовленной из цветочной пыльцы, пораженной грибом *Ascosphaera apis* [2]. Импортные тест-системы на данный момент не доступны, хотя публикации по диагностике данным методом существуют в отдельных лабораториях.

Цель исследования – сконструировать тест-систему ПЦР для диагностики аскосфероза.

Материалы и методы исследований

При клиническом обследовании больных пчелосемей определяли степень поражения расплода с учетом погибших личинок в соторамках и выброшенных на дно улья. При слабой степени поражения обнаруживали до 10, при средней – от 11 до 100, при сильной – более 100 погибших личинок.

Отбор материала для исследования проводили согласно Методическим указаниям по отбору патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования (утверждены ГУВ МСХ и П РБ 16.01.2008 г. за № 10-1-5/36).

Микроскопические исследования проводили согласно Методическим рекомендациям по проведению микроскопических исследований в ветеринарных диагностических лабораториях (утверждены ГУВ МСХ и П РБ 03.03.2008 г. за № 10-1-5/137).

Для конструирования ПЦР тест-системы для диагностики аскосфероза пчел использовали следующее оборудование и материалы:

а) приборы и расходные материалы: ламинар, бытовой холодильник, термостат, микротермостат «BIOSAN-CH100» (Латвия), амплификатор «С 1000 Thermal Cycler», BIO-RAD (США), центрифуги, паровые автоклавы, сухожаровые шкафы, микроцентрифуга высокоскоростная (14 000 об/мин) Jouan (Франция), комплект автоматических пипеток «SOCOREX» (Швейцария) 0,1–2,0 мкл, 0,5–10,0 мкл, 20–200 мкл, 100–1000 мкл, 1–10 мл и наконечники к ним (с фильтрами и без фильтров), пробирки типа «эппендорф» вместимостью 0,5 и 1,5 мл, вортекс «BIOSAN» (Латвия), пробирки для ПЦР 0,2 мл для прибора «С 1000 Thermal Cycler», система для электрофореза «Consort», (Бельгия), Gel Doc XR и программа imageLab Software, BIO-RAD (США), весы RADWAG AS 220/X (Польша), система подготовки воды «Crystal B», ADRONA (Латвия), фильтрационная установка, весы аналитические, весы до 1 кг;

б) реактивы: 10x PCR буфер для Tag ДНК-полимеразы (ГНУ «Институт биоорганической химии НАНБ»), 10x TE-буфер pH 8,0 (SIGMA), маркер молекулярного веса «GeneRuler 50 bp Ladder» (Fermentas, Литва), Taq-полимераза, 5 ед/мкл (ГНУ «Институт биоорганической химии НАНБ»), раствор $MgCl_2$ (50 мМ), смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов (10 мМ) (Fermentas, Литва), агароза (helicon, Россия).

Для детекции геомы *Ascosphaera apis* была подобрана пара праймеров, подбор которых осуществляли по базам данных Национального центра биотехнологической информации – GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), Европейского института биоинформатики – EMBL (<http://www.ebi.ac.uk/>) и Японского банка ДНК – DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>). Были подобраны специфичные праймеры к межгенным спейсерам *A. apis*. Температуры плавления праймеров рассчитывали по формуле ($T_m = 4 (G + C) + 2 (A + T)$).

Выделение ДНК проводили набором «АмплиПрайм РИБО-сорб», согласно инструкции по его применению.

Температуру отжига праймеров проводили в температурном диапазоне 57–60 °C, MgCl₂ в реакционной смеси использовали в концентрации 3 mM, ДНК-полимеразу – в концентрации 1 ед. активности на 50 мкл реакционной смеси, праймеры и dNTPs в концентрации 0,3 ммоль. Амплификацию проводили по следующей схеме: 1 цикл: 3 мин – 98 °C; 40 циклов: 0,5 мин – 98 °C; 1 мин – 57–60 °C; 1 мин – 72 °C; 1 цикл: 5 мин – 72 °C.

Множественное нуклеотидное выравнивание проводили с помощью программы AlignX. Специфичность подобранных праймеров проверяли программой BLAST.

Результаты и их обсуждение

Нами обследовано 13 пчелопасек Минской и Брестской областей. В 36,4 % подтвержден диагноз на аскосфероз по клиническим признакам заболевания, из них зарегистрированы степени поражения: сильная – в 16,6 %, средняя – в 50,0, слабая – в 33,35 % [1].

Всего доставлено в лабораторию и исследовано 100 проб патологического материала пчел, отобранных на пасеках Брестской и Минской областей. Патологический материал, отобранный на пасеках, хранили в лаборатории при температуре –20 °C.

Клинические признаки заболевания зависели от формы проявления болезни. Различали скрытую, легкую и тяжелую формы течения аскосфероза.

При скрытой форме течения болезни отмечались единичные пораженные личинки, при этом клинических признаков заболевания обнаружить не удавалось.

При легкой форме поражения аскосферозом (до 10 пораженных личинок на соте) удавалось обнаружить пораженные личинки. По мере повышения температуры окружающей среды и улучшения кормовой базы летная активность пчел повышалась, что могло способствовать самовыздоровлению. Однако легкая форма проявления болезни могла перейти в тяжелую форму (до 100 пораженных личинок на соте).

В пораженных семьях пчелы не в состоянии были очистить ячейки от мумифицированных личинок, матки прекращали яйцекладку, что приводило к уменьшению количества пчел, ослаблению семьи, а иногда даже к ее гибели [1, 3].

При диагностике заболевания мы учитывали эпизоотологические данные, клинические и патоморфологические изменения.

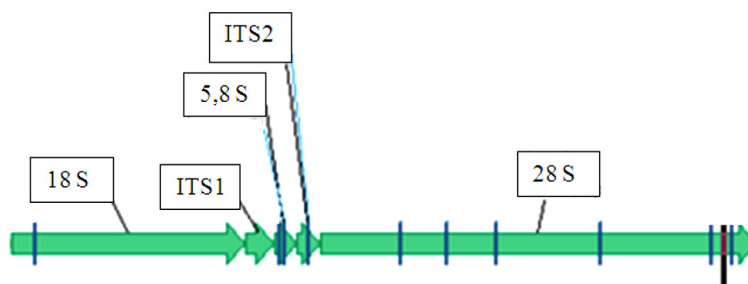


Рис. 1. Фрагмент генома *A. apis* и положение межгенных спейсеров ITS1 и ITS2, к которым подобраны праймеры

При клиническом обследовании больных пчелосемей определяли степень поражения расплода с учетом погибших личинок в соторамках и выброшенных на дно улья. При слабой степени поражения обнаруживали до 10, при средней – от 11 до 100, при сильной – более 100 погибших личинок.

Для того чтобы более эффективно диагностировать скрытую форму аскосфероза на пчелопасеках, а также профилактировать распространение данного заболевания при пересылке маток, пакетов пчел из неблагополучных пасек, кормлении пчел пыльцой или белковой пастой, изготовленной из цветочной пыльцы, пораженной грибом, нами разработана тест-система ПЦР для детекции генома *A. apis*.

При поиске специфичных праймеров мы исходили из того, что ген рибосомальной РНК (рДНК) – один из наиболее консервативных (наименее переменных) генов, поэтому систематическое положение организма и расхождение с близкими видами могут быть определены на основании анализа сходств и различий в последовательностях рРНК.

80S рибосома эукариот состоит из большой 60S субъединицы (построенной на основе трех молекул рРНК – 5S, 5,8S, 28S) и малой 40S субъединицы (построенной на основе 18S рРНК). В ходе исследования локуса 5,8S оказалось, что межгенные спейсеры ITS1 и ITS2 более переменны. Анализ полиморфизма данных межгенных спейсеров позволяет изучать филогенетические отношения между близкородственными видами, а также изучать филогению между популяциями внутри вида и между отдельными индивидами. Поэтому мы выбрали праймеры к консервативному локусу межгенных спейсеров ITS1 – 5,8 S-ITS2, который находится между 18S и 28S рДНК (рис. 1).

Подобранные праймеры (см. таблицу), кодирующие межгенные спейсеры, фланкируют участок 1648–2118 штамма CQ867786 длиной 471 п. н. (рис. 2).

Основные параметры сконструированных праймеров

Праймер	Последовательность, 5'-3'	Температура плавления (T_m), °C	GC, %	Ампликон, п. н.
F asc (ITS1)	GGCTAGGTGCCCTAAACAAG	66	57	471
R asc (ITS2)	CTAGAGCGAAAGACAAAGCCC	64	52	

1601	GTTTCCGTAG GTGAACCTGC GGAAGGATCA TTAATGTGTG TCTGTGCGC TAGGTGCCCC TAAACAAGC CCTGCCGCGC ACTCCACCC TTGTCTACCT
1701	CAAAGGCATC CACTTGGACG CTTCTCTAGT AATTACACAC AGACACGCG ATCCACGGGG ATTGTTCGG GGACGGCGCG TGAGGGTGGG AACAGATGGA
1801	TACCTGTTGC TTCGGCGGCG CTGCGGGTTG TCGCGAGCCT GCTGCCGGAG GGGTTAGTTC CCCCCTGGCT AGCGTCCGCC GAAGATAAAC GAACGCCAGT
1901	ATGGACAACG AAGCGCGCCG GACGCCCAAG AGCGCTCGGA CGACGGCCTC CCCAATCAAG GGGGGACCGA TCGCAGGCGG CTTCTATTGG CTTGAGGTCA
2001	CGAAGATTGA AGTCTGAAGA AAATGTATAA ATAAATCAAA ACTTTCACAA ACGGATCTCT TGGTTCGAC ATCGATGAAG AACGCAGCA AATGCGATAA
2101	GCTCTTAACT TCAGACTTCT TTTAACTATT TATTTAGTGT TGAAGTGTGT TGCCTAGAGA ACCAAGGCTG TAGCTACTTC TTGCGTCGCT TTACGCTATT
2201	GTAAATGTGA TTGCAAAATT CGGTGAATCA TCGAATCTTT GAACGCACAT TCCGCCCTCT GGTATTCCCG GGGGCATGCC TGTCCGAGCG TCATTGCAAC
2301	CATTACACTT AACGCTTTAA GGCACCTAGT AGCTTAGAAA CTTGCGTGTA ACGCGGGAGA CCATAAGGCC CCCCCTACGG ACAGGCTCGC AGTAACGTTG
2401	CCTCAAGCAC GGCCTGTGTG TTGGGCGATC GTCCCGCTTT AGGAGGGAGC CGCCCGAAG GCAGTGACGG CGTCTGTTC CGGTGCCCGA GCGTATCGGG
2501	GGAGTTCGTG CCGAACACAC AACCCGCTAG CAGGGCAGAA TCCTCCCTGC GCGGGCTTTC CGTCACTGCC GCAGCACAAG GCCACGGGCT CGCATACCCC
2601	CTTTGCTTTT CGCTCTAGTG GCGTCGGCGA CTGTCCGGTC TAACCATCAT TTACTTCTAG TGGTTGACCT CGGATCAGGT AGGGTTACCC GCTGAACCTA
2701	GAACAGAA GCGAGATGAC CGGACCGGCT GACAGGCCAG ATTGGTAGTA AATGAAGATC ACCAACTGGA GCCTAGTCCA TCCCAATGGG CGACTTGAAT

Рис. 2. ITS1 - 5,8 S-ITS2 фрагмент штамма CQ867786 длиной 471 п. н.

lect: All None Selected:0							
Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results							
Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession	
Ascosphaera apis isolate P5 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KX622187.1	
Ascosphaera apis strain m12 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KT373975.1	
Ascosphaera apis strain m10 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KT373974.1	
Ascosphaera apis strain m05 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KT373973.1	
Ascosphaera apis isolate ST-OR11-A1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KJ158165.1	
Ascosphaera apis strain 7405 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer	42.1	42.1	100%	0.061	100%	GQ867785.1	
Ascosphaera apis strain NAP internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gen	42.1	42.1	100%	0.061	100%	GQ867766.1	
Ascosphaera apis strain 13785 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed space	42.1	42.1	100%	0.061	100%	GQ867764.1	
Ascosphaera apis strain ATCC MYA-4450 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcri	42.1	42.1	100%	0.061	100%	FJ172292.2	
Ascosphaera apis internal transcribed spacer 1 (ITS1), 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcr	42.1	42.1	100%	0.061	100%	U68313.1	
PREDICTED: Panthera pardus uncharacterized LOC109248296 (LOC109248296), transcript variant X2	36.2	36.2	85%	3.8	100%	XR_002071995.1	
PREDICTED: Ficedula albicollis tenascin C (TNC), mRNA	36.2	36.2	85%	3.8	100%	XM_016302394.1	

a

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Ascosphaera apis isolate P3 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, c	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KX622185.1
Ascosphaera apis strain m12 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 ar	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KT373975.1
Ascosphaera apis strain m10 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KT373974.1
Ascosphaera apis strain m05 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KT373973.1
Ascosphaera apis isolate 4081-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA ger	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KM242592.1
Ascosphaera apis isolate 4080-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA ger	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KM242591.1
Ascosphaera apis isolate 4079-2 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA ger	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KM242590.1
Ascosphaera apis isolate 4078 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KM242589.1
Ascosphaera apis isolate ST-OR11-A1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RN	42.1	42.1	100%	0.061	100%	KJ158165.1
Ascosphaera apis strain 7405 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5	42.1	42.1	100%	0.061	100%	GQ867785.1
Ascosphaera apis strain NAP internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene ai	42.1	42.1	100%	0.061	100%	GQ867766.1
Ascosphaera apis strain 13785 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1,	42.1	42.1	100%	0.061	100%	GQ867764.1
Ascosphaera apis strain ATCC MYA-4450 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed	42.1	42.1	100%	0.061	100%	FJ172292.2
Ascosphaera apis internal transcribed spacer 1 (ITS1), 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed	42.1	42.1	100%	0.061	100%	U68313.1
Ascosphaera apis strain L9 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, cor	38.2	38.2	90%	0.96	100%	KJ123947.1

b

Рис. 3. Результаты BLAST нуклеотидной последовательности прямого (a) и обратного (б) праймера к *Ascosphaera apis*

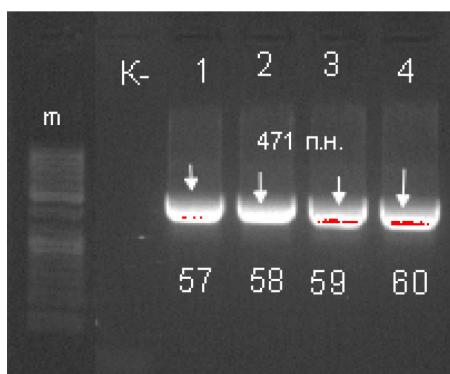


Рис. 4. Электрофоретическая детекция продуктов амплификации проб, исследуемых тест-системой для обнаружения ДНК возбудителя *Ascosphaera apis*: 1 – проба с температурой отжига 57 °С; 2 – проба с температурой отжига 58 °С; 3 – проба с температурой отжига 59 °С; 4 – проба с температурой отжига 60 °С; К – отрицательный контрольный образец; m – маркер

При постановке ПЦР с пробами ДНК выделенной из личинок пчел, пораженных грибом *Ascosphaera apis*, диагноз подтвердился. Стрелками показаны специфические фрагменты ДНК *Ascosphaera apis* на уровне 471 п. н. ПЦР тест-система работает в широких диапазонах температур – 57–60 °С (рис. 4).

Выводы

1. В результате проведенных исследований установлено, что основным микозным заболеванием пчел в Республике Беларусь является аскосфероз. Выделенные штаммы возбудителя аскосфероза пчел *Ascosphaera apis* относятся к классу *Ascomycetes* (сумчатые), подклассу *Protoascomycetes* (голосумчатые), семейству *Ascosphaeraceae*, роду *Ascosphaera*, виду *Ascosphaera apis* var. *apis*.

2. Эпизоотическая ситуация по аскосферозу остается напряженной. Отмечается сильная степень поражения пчелосемей. Количество больных семей на отдельных пасеках достигает 30,0 %, что обуславливает ослабление пчелосемей, снижение способности пчел к медосбору и опылению, не позволяет эффективно использовать потенциал пчелосемей, приводит к гибели пчел и наносит существенный экономический ущерб отрасли.

3. Впервые в Республике Беларусь для диагностики возбудителя аскосфероза пчел сконструирована отечественная тест-система для обнаружения ДНК возбудителя *Ascosphaera apis*.

4. Разработанная тест-система позволяет проводить быструю (в течение 5 ч) детекцию генома возбудителя (*Ascosphaera apis*) как в организмах, так и в объектах окружающей среды.

По результатам множественного выравнивания 15 нуклеотидных последовательностей с помощью программы Align X данного участка генома *A. apis* (изоляты U68313.1, FJ172292.2, GQ867764.1, GQ867766.1, GQ867785.1 и другие, указанные на рис. 3) мы подтвердили общие видоспецифические участки подобранных праймеров.

Специфичность подобранных праймеров проверили программой BLAST. На рис. 3 видно, что 100,0 %-ная идентичность праймера во всех (21) нуклеотидах соответствует только *Ascosphaera apis*.

90,0 %-ное совпадение у обратного праймера только при сравнении с секвенсом штамма KJ123947.1, но это связано с ошибкой секвенса в двух нуклеотидах на пятом штрих-конце обратного праймера (5'-NNAGAGCGAAAGACAAAGCCC-3').

5. Разработанный метод диагностики устраняет необходимость культивирования образцов и может быть использован для обработки большого количества отобранного патологического материала. Тест-система может быть применена для более эффективного диагностирования скрытых форм аскосфероза, при постановке диагноза при миксинфекциях, а также пересылке маток, пакетов пчел и другой продукции пчеловодства.

Литература

1. Методические рекомендации по проведению ветеринарно-санитарных мероприятий на пчелопасеках при аскосферозе пчел. – Минск, 2012. – 24 с.
2. ПЦР-диагностические методы для асфосфаиновых инфекций у пчел / R. R. James [et al.] // J. Invertebr Pathol. – 2005. – Vol. 90, № 2. – P. 98–103.
3. Черник, М. И. Изучение закономерностей проявления микозных патологий у пчел / М. И. Черник // Актуальные проблемы биотехнологии в аграрно-промышленном комплексе : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 26–27 ноября 2015 г. / РУП «Ин-т эксперимент. вет. им. С. Н. Вышелеского» ; под ред. П. А. Красочки. – Минск, 2015. – С. 137–144.
4. Bissett, J. *Ascosphaera acerosa* sp. nov. Isolated from the alfaalfa leafcutting bee, with a key to the species of *Ascosphaera* / J. Bissett, G. Duke, M. Goettel // Mycologia. – 1996. – Vol. 88. – P. 797–803.
5. Maurizio, A. Über die Kaltbrut (Pericystis-Mykose) der Bienen / A. Maurizio // Archiv Bienenkunde. – 1934. – Vol. 15. – P. 165–193.

Поступила 15.06.2017 г.

УДК 571.27

В. Б. Сбойчаков¹, В. Е. Михеев², С. В. Борисенко³, А. М. Сокурова⁴

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПТИЦ КАК ДОНОРОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

¹ГАОУ ВО ЛО «Ленинградский государственный университет
имени А. С. Пушкина», г. Санкт-Петербург, Россия

²ФКП «Армавирская биологическая фабрика» Министерства сельского
хозяйства Российской Федерации, пос. Прогресс, Новокубанский р-н,
Краснодарский край, Россия

³ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», г. Санкт-Петербург, Россия

⁴ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
г. Санкт-Петербург, Россия

Введение

До настоящего времени не прекращаются поисковые исследовательские работы по подбору биологических моделей – продуцентов специфических иммуноглобулинов, необходимых как для иммунотерапии, так и для создания иммунодиагностических средств индикации различных патологических агентов.

При промышленном производстве иммунодиагностических препаратов необходимым условием получения качественных диагностических средств является исполнение следующих требований, предъявляемых к используемому биологическому сырью: стандартность, стабильность и доступность исходного биологического сырья.

Для проведения научно-исследовательских работ в биологии, медицине, ветеринарии, а также других отраслях науки и биологической промышленности используют многие виды животных. При этом выбор вида животного-донора напрямую зависит от целей и задач, стоящих перед исследователем или производством [5].

При использовании животных-доноров возможно возникновение следующих проблем:

- невозможность получения больших объёмов биологической жидкости (сыворотки крови, асцитной жидкости) от мелких животных;
- образование воспалительного инфильтрата в месте инъекции, особенно при многократном введении антигена с адъювантом в разные области тела, развитие абсцессов и флегмон с возможным ограничением физиологических функций и гибелью животного-донора;
- высокая трудоёмкость и большие экономические затраты по содержанию и кормлению животных-доноров (мелкого и крупного рогатого скота, лошадей, кроликов);
- необходимость наличия больших производственных площадей;
- поддержание статуса SPF (specific pathogen free – свободный от специфических патогенов) возможно только у мелких животных – грызунов (мышей, крыс), кур и перепелов [1, 2];
- наличие специальной психологической и профессиональной подготовки у персонала, занятого заготовкой крови [3].

Материалы и методы исследований

В условиях вивария содержали перепелов породы «Фараон». Предварительно экспериментальное птицепоголовье было проверено на соответствие статусу SPF.

Помещения полностью обеспечивали изоляцию птиц от других видов птиц и экспериментальных животных.

Расчёты по получению перепелиных яиц производили на основании норм технологического проектирования птицеводческих предприятий (ОНТП 4-88, Госагропром СССР).

Полученные результаты заносили в карты для статистической обработки материала. Анализ информации осуществляли на персональном компьютере «Pentium-III» с использованием программ «Statistica for Windows» и «Microsoft Excel».

Для сравнения полученных результатов в качестве основного статистического метода применяли выборочное оценивание. Приняв допущение, что

случайная величина распределена по нормальному закону, интервальную оценку проводили с помощью распределения Стьюдента.

Рассчитывали среднее выборочное значение ($\bar{X}$), среднее квадратическое (стандартное) отклонение от среднего значения (σ_x) и ошибку средней величины ($m_{\bar{x}}$).

Считается, что для достаточно надёжных статистических выводов вероятность ошибки не должна превышать 0,05. Это условие и было принято при анализе экспериментальных данных.

Методом корреляционного анализа проводили исследование взаимосвязи полученных показателей.

Построение графиков, диаграмм и установление регрессионных зависимостей осуществляли с использованием программ «Statistica for Windows» и «Microsoft Excel».

Некоторые методики, имеющие частный характер, изложение которых не может быть отделено от экспериментальных данных, приведены в соответствующих разделах работы.

Использование всего комплекса приведённых методик позволило получить в настоящем исследовании необходимые данные для решения поставленных задач.

Результаты и их обсуждение

Изучение системы иммунитета у разных видов животных показало, что в процессе эволюции системы защиты организма совершенствуются, как морфологически, так и функционально. Отдельную ветвь в эволюционном процессе развития хордовых представляют птицы, у которых обнаружено три типа иммуноглобулинов: IgG (IgY), IgM, IgA. При этом IgG (IgY) обнаруживаются в сыворотке крови и яичном желтке; IgA – в яичном белке и желчи; IgM – в сыворотке крови и яичном белке. По сравнению с млекопитающими у птиц как продуцентов диагностических иммуноглобулинов имеется следующее преимущество: наличие IgG (IgY) в желтке яиц, что дает возможность неинвазивного получения большого количества иммуноглобулинов за незначительный промежуток времени [4].

Преимущества использования в качестве продуцентов диагностических иммуноглобулинов птиц по сравнению с млекопитающими представлены в табл. 1, из данных которой видно, что из желтков кур можно получить значительно большее количество диагностических иммуноглобулинов, чем из сыворотки крови кролика. К тому же IgY не обладают неспецифическим взаимодействием с компонентами сыворотки крови млекопитающих.

В современном промышленном птицеводстве разводят более семи видов птиц. Эти виды пернатых селекционированы на высокую яичную продуктивность. Приведенные в табл. 2 данные показывают, что современные породы кур высокопродуктивных кроссов могут снести за год от 180 до 280 штук яиц с массой 50–60 г. При этом зависимости яйцекладки от времени года не наблюдается.

Таблица 1. Краткая характеристика исходного сырья, полученного от кроликов и кур для дальнейшего выделения диагностических иммуноглобулинов

Показатель	Кролик	Курица
Способ отбора исходного сырья для выделения антител	Инвазивный	Неинвазивный
Общее количество IgG, полученное при разовом получении исходного сырья	200 мг IgG из 40 мл крови	50 мг IgG (IgY) из одного желтка куриного яйца
Общее количество IgG, получаемое за период 30 сут., в том числе специфических IgG	200 мг, до 5,0 %	1500 мг, до 10,0 %

Таблица 2. Яичная продуктивность различных видов птиц, используемых в птицеводческой промышленности

Вид птицы	Масса яйца, г	Возраст начала яйцекладки, сут.	Яичная продуктивность за год, шт.	Зависимость яйцекладки от сезонности
Куры	50–60	90–140	180–280	Отсутствует
Утки	80–95	210–270	100–120	Присутствует
Гуси	150–200	240–300	50–80	Присутствует
Индейки	80–90	240–300	70–120	Присутствует
Цесарки	38–52	210–240	120–150	Присутствует
Бентамки	44	180–240	90–150	Отсутствует
Перепела	10–14	35–40	250–300	Отсутствует

Отсутствие сезонности яйцекладки не отмечается и у перепелов. Однако их продуктивность в исследуемой группе сельскохозяйственных птиц является наиболее высокой (возраст птиц в начале яйцекладки в 2,0 раза и более меньше куриного, а количество яиц, снесённых самками перепелов за год, примерно в 1,5 раза больше, чем наблюдается у кур).

Приведённые в табл. 3 данные можно предложить для использования при обосновании использования самок перепелов в качестве источника диагностических иммуноглобулинов.

Таблица 3. Расчётные данные для получения из перепелиного яйца биологического сырья и побочной продукции

Показатель	Единица измерения	Количество
Размер основной производственной площади	м ²	35
Количество клеточных сегментов	шт.	9
Количество самок перепелов, размещаемых в одном сегменте	гол.	336
Суммарное количество самок перепелов в производственной зоне	гол.	1700
Планируемая сохранность перепелов	%	80
Конечное поголовье самок-перепелов	гол.	1360
Суммарная живая масса перепелов	кг	255
Среднесуточный расход корма на одну птицу	г	30
Суточный расход кормов на все поголовье перепелов	кг	51

Показатель	Единица измерения	Количество
Годовая потребность в комбикорме	т	15
Доля яйценоскости	%	65
Яйценоскость	шт/гол.	240
Суточный сбор яиц	шт.	600–800
Годовое производство яиц	тыс. шт.	230
Расход воды (без учёта бытовых нужд)	л	50–100
Выход помёта в сутки	кг	100–150
Выход помёта в год	т	30–50

Заключение

Сопоставляя все приведённые данные, видно, что перепела как продуцент биологического сырья для производства диагностических иммуноглобулинов обладают следующими преимуществами:

- малый вес тела самок перепелов и их высокая яичная продуктивность позволяют использовать небольшие по площади производства;
- короткий период полового созревания самок перепелов и отсутствие сезонности в яйцекладке;
- возможность поддержания статуса SPF;
- непрерывность и неинвазивность получения исходного сырья (желточной массы из яйца) для выделения иммуноглобулинов.

Литература

1. Ветеринарно-санитарные требования к перепелиным СПФ-фермам, продающим био-предприятиям инкубационное яйцо / Р. Н. Коровин [и др.]. – Л. : ВНИВИП, 1989. – 18 с.
2. Методические рекомендации по отбору, контролю и эксплуатации СПФ-птицы / Р. Н. Коровин [и др.]. – Л. : ВНИВИП, 1989. – 32 с.
3. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных: Национальный научно-исследовательский совет / Комиссия по наукам о жизни, Ин-т ресурсов лабораторных животных: Russian Version. – Washington : National Academy Press, 1996. – 138 с.
4. Селезнев, С. Б. Постнатальный онтогенез иммунной системы птиц и млекопитающих: эволюционно-морфологическое исследование : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 16.00.02 / С. Б. Селезнев. – М., 2000. – 245 с.
5. Sboychakov, V. B. Bird's eggs yolk as a perspective source of diagnostic immunoglobulins reception / V. B. Sboychakov, S. V. Borisenko, A. M. Sokurova // Workshop bioeconomy in Russia : 14th European congress on biotechnology, Barcelona, 13–16 september, 2009. – Barcelona, Spain : Russian biotechnology society, 2009. – P. 15.

Поступила 28.06.2017 г.

А. П. Кудрявченко, В. В. Кацимон

РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ *TOXOPLASMA GONDII*

*Государственный научно-контрольный институт
биотехнологии и штаммов микроорганизмов, г. Киев, Украина*

Введение

Вопрос токсоплазмоза животных и человека остается весьма актуальным для ветеринарной и медицинской науки и практики Украины и мира [1]. Поскольку это обусловлено значительным его распространением; ограниченностью методов исследования, которые подтверждают наличие в организме животных и человека возбудителя и характерными клиническими признаками; невозможностью полной санации организма с помощью известных ныне средств и схем лечения, а также отсутствием у отдельных специалистов понимания патогенеза данной патологии, особенностей диагностических и лечебных подходов.

Нехарактерные клинические проявления и течение токсоплазмоза и, часто, преобладание латентных форм над клинически выраженными делают невозможным постановку диагноза. В связи с этим возрастает роль лабораторных исследований, включающих паразитологические, серологические и молекулярные методы. Следует отметить, что в практике существует более 20 методов исследования, но ни один из них еще не удовлетворил специалистов полностью [3].

Научной основой для разработки набора для диагностики токсоплазмоза у животных стали результаты собственных исследований, свидетельствующие о перспективности использования метода ПЦР для выявления возбудителя *Toxoplasma gondii* в биологическом материале.

Материалы и методы исследований

Для постановки ПЦР использовали два синтетических олигонуклеотидных праймера, которые являются комплементарными двух цепей специфического фрагмента ДНК. Правильный выбор олигонуклеотидных праймеров определяет эффективность и воспроизводимость ПЦР. Выбор участка для дальнейшего синтеза олигонуклеотидных праймеров *Toxoplasma gondii* базировался на анализе ее вариабельности и поиска консервативных последовательностей. Наиболее удачными для подбора праймеров оказались нуклеотидные последовательности гена поверхностного антигена Р30 *Toxoplasma gondii* (рис. 1).

Выбранный для амплификации участок генома был достаточно консервативным и не имел гомологии с другими возбудителями болезней. Для выяснения этого нами было проведено выравнивание нуклеотидных последовательностей с помощью компьютерных программ и сравнение их гомологичности для

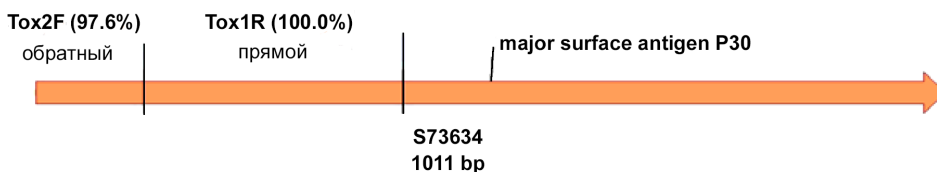


Рис. 1. Расположение разработанных праймеров на участке поверхностного антигена P30 *Toxoplasma gondii*

дальнейшего анализа на вариабельность и поиска консервативных участков, необходимых для подбора праймеров. Проверка с помощью программы BLAST-on line не выявила критической гомологии с нуклеотидной последовательности других групп бактерий, вирусов или эукариот.

На стадии выделения ДНК нами были апробированы несколько методов выделения ДНК и их модификаций в различных комбинациях лизиса, экстракции и преципитации ДНК, базовые из них:

- метод с применением фенольно-хлороформной экстракции с последующей преципитацией ДНК изопропиловым спиртом;
- метод лизиса клеток гуанидинтиоционатом с последующей сорбцией ДНК на сорбенте.

Таким образом, после апробации нами были выбраны для выделения ДНК возбудителя токсоплазмоза метод лизиса клеток гуанидинтиоционатом с последующей сорбцией ДНК на сорбенте.

Постановка ПЦР проходила в три этапа. Нуклеиновые кислоты выделяли с использованием набора «ДНК»-сорб-В» (ЦНИИ эпидемиологии МЗ РФ, г. Москва), в основе которого лежит метод сорбции на силикагеле. Для наработки специфических участков ДНК использовали подобранные нами олигонуклеотидные праймеры Tox 1 R (GTGAGTTTGATGCCTGCCGTGTC) и Tox 2 F (GTTGCGATGTGGCGYTATGGC).

Амплификация состояла из 35 циклов. Каждый цикл амплификации охватывал денатурации ДНК при температуре 95 °С – 45 с, отжиг праймеров при различных температурах (58 °С, 60 °С, 62 °С) – 30 с, синтез комплементарных цепей при температуре 74 °С – 40 с (в последнем цикле эта стадия была продлена до 5 мин).

Результаты и их обсуждение

Учитывая полученные результаты исследований, нами была определена оптимальная температура отжига праймеров – 60 °С, при которой образовывались продукты амплификации. Подобранные праймеры Tox 1 (прямой) и Tox 2 (обратный), образующие при амплификации специфический фрагмент 292 н. п., оказались чувствительными и специфичными к ДНК *Toxoplasma gondii* (рис. 2).

Изучение чувствительности и специфичности разработанной тест-системы: для испытания тест-системы на специфичность и чувствительность были

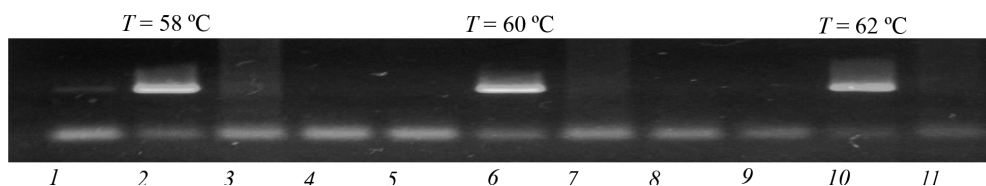


Рис. 2. Результаты амплификации с праймерами Tox 1 (прямой) и Tox 2 (обратный), полученные при разной температуре отжига в диапазоне 58–62 °C: 1, 5, 9 – *Neospora caninum*; 2, 6, 10 – положительный контрольный образец; 3, 7, 11 – ДНК кота; 4, 8 – отрицательный контроль реакции

использованы ДНК возбудителя *Toxoplasma gondii*, взятая из контрольного образца диагностического РЗГА набора, и полевой штамм. Для проверки таксономической специфичности тест-системы были использованы штаммы бактерий, не относящихся к роду *Toxoplasma*, но генотипически к ним родственные или способные вызвать подобные проявления заболевания, а именно: *Neospora caninum*, *Micoplasma* spp., *Chlamydia abortus*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus alvei*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*.

Полимеразная цепная реакция была поставлена согласно Инструкции разработанной тест-системы «Тохо-тест» (РП № ВВ-00446-06-12). Отклонений от инструкции при работе не наблюдалось. С целью определения воспроизводимости ПЦР тест-системы исследования проб были проведены 3,0 раза.

Подготовку опытных образцов, постановку реакции амплификации и учет результатов проводили согласно инструкции к тест-системе.

Следующим шагом было определение порога чувствительности, т. е. минимальной концентрации ДНК-копий в анализируемой пробе, которую тест-система позволяет идентифицировать. Чувствительность тест-системы определяли на различных разведениях контрольного образца ДНК *Toxoplasma gondii*: 10^{-8} г ДНК; $10,0^{-9}$ г ДНК; 10^{-10} г ДНК; 10^{-11} г ДНК; 10^{-12} г ДНК. Чувствительность ПЦР тест-системы «Тохо-тест» составляет от 10 клеток в анализируемом образце.

Специфичность ПЦР тест-системы «Тохо-тест» для детекции возбудителя *Toxoplasma gondii* определяется наличием специфического фрагмента размером 292 н. п. в «положительных» образцах и отсутствием этого фрагмента в «отрицательных» образцах: штаммов бактерий, не относящихся к роду *Toxoplasma* и в отрицательном контрольном образце. Чувствительность системы можно считать удовлетворительной, поскольку положительные результаты были получены в позитивных образцах с концентрацией ДНК от 10 клеток в анализируемом образце.

Таким образом, исследование по проверке диагностической системы на воспроизводимость, чувствительность и специфичность показали, что она соответствует всем требованиям для качественного проведения опыта.

Полученные результаты дали нам возможность создать и предлагать для внедрения диагностический набор на основе ПЦР для индикации ДНК *Toxoplasma gondii*.

Определённые экспериментальным путем оптимальные условия постановки реакции с положительными контролями предоставили нам возможность в дальнейшем проводить опыты на биологическом материале (крови, смывах с конъюнктивы, фекалиях).

Определение эффективности ПЦР тест-системы по сравнению с другими методами (ИФА, копроскопическим). Исследованы образцы (кровь, фекалии, смывы с конъюнктивы), полученные от домашних кошек и (кровь) собак (табл. 1 и 2).

Таблица 1. Исследование котов на наличие *Toxoplasma gondii*

Вид животного	Количество животных	Количество позитивных, %	
		ИФА	ПЦР
Коты	126	25,4	27
Кошки	131	25,2	25,2
<i>Всего:</i>	257	—	—
<i>В среднем:</i>	—	25,3	26,1

Таблица 2. Исследование в ПЦР и ИФА собак на наличие *Toxoplasma gondii*

Вид животного	Количество животных	Количество позитивных, %	
		ИФА	ПЦР
Кобели	31	9,7	9,7
Суки	33	12,2	15,1
<i>Всего:</i>	64	—	—
<i>В среднем:</i>	—	10,95	12,4

Методом ПЦР определили, что 26,1 и 12,4 % исследованных кошек и собак соответственно имели положительную реакцию на наличие ДНК возбудителя *Toxoplasma gondii*.

При этом частота инвазии не зависела от пола кошек и собак. Зараженными были коты-самцы (27,0 %) и самки (25,2 %), а также кобели (9,7 %) и суки (15,1 %).

Сравнительные исследования использования ПЦР и ИФА для диагностики токсоплазмоза у котов и собак свидетельствуют, что их показатели почти совпадают, т. е. все положительные в ПЦР образцы реагировали и в ИФА. Приведенные данные подтверждают результаты других исследователей (Грачева Л. И., 2002; Галат М. В., 2015), которые также отмечали высокую чувствительность, специфичность и воспроизводимость ПЦР.

Для котов требуется обязательная лабораторная диагностика двумя, иногда тремя методами, поскольку они заражают ооцистами окружающую среду и способны к реактивации инвазивного процесса. Эти данные совпадают с исследованиями других авторов (Вершинин И. И., 2003).

Итак, методом полимеразной цепной реакции можно в кратчайшие сроки выявлять ДНК возбудителя в любом биологическом материале организма животного.

Заключение

Разработанная ПЦР тест-система «Тохо-тест» при оптимизированных условиях постановки реакции (оптимальная температура отжига – 60 °С) имеет высокую чувствительность (10 клеток в анализируемом образце), специфичность и позволяет выявить возбудителя *Toxoplasma gondii* в биологическом материале (кровь, смывы с конъюнктивы, фекалии) и может быть использована в скрининговых исследованиях и комплексной диагностике токсоплазмоза у домашних кошек и собак.

Литература

1. Аксман, А. Приобретенный токсоплазмоз с поражением центральной нервной системы / А. Аксман // Мед. паразитология. – 1985. – № 5. – С. 18–21.
2. Акбаев, М. Ш. Паразитология и инвазионные болезни животных / М. Ш. Акбаев. – М., 1998. – С. 68–73.
3. Паразитологія та інвазійні хвороби тварин / В. Ф. Галат [та інш.]. – Київ : Вища освіта, 2003. – 434 с.
4. Parasitophorous vacuole: morphofunctional diversity in different coccidian genera (a short insight into the problem) / T. V. Beyer [et al.] // Cell Biology International. – 2002. – № 26. – P. 861–871.
5. Dubey, J. P. History of the Discovery of the Life Cycle of *Toxoplasma gondii* / J. P. Dubey // International Journal for Parasitology. – 2009. – Vol. 39. – P. 877–882.

Поступила 29.06.2017 г.

УДК 637.075:579.22

**В. В. Касянчук¹, А. Н. Бергилевич¹, О. Н. Дерябин²,
В. Б. Кустуров³, О. Н. Ефимова³**

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ, ОСНОВАННОЙ НА ПЦР ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ШИГАТОКСИНПРОДУЦИРУЮЩИХ *E. COLI* (STEC)

¹Сумской государственный университет, г. Сумы, Украина

²Государственный научно-контрольный институт биотехнологии
и штаммов микроорганизмов, г. Киев, Украина

³Сумской национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

Введение

Кишечные палочки (*E. coli*) – бактерии, которые обычно находятся в кишечнике людей и теплокровных животных. Большинство штаммов *E. coli* безвредны. Однако некоторые штаммы производят шигаподобный токсин – один из самых сильных токсинов, которые известны человеку. Они относятся к шигатоксинпродуцирующим *E. coli*. Основным представителем группы шига-

токсинпродуцирующих эшерихий является *E. coli* O157:H7. В группу шигатоксинпродуцирующих эшерихий, которые не относятся к *E. coli* O157:H7 входят следующие высокопатогенные серовары: O157: H7 O26, O45, O55, O103, O111, O113, O117, O121, O145, которые могут вызывать тяжелые болезни пищевого происхождения. Эта группа *E. coli* сокращенно называется STEC – Shiga toxin producing *E. coli*.

Основным резервуаром STEC является крупный и мелкий рогатый скот. Свиньи и другие домашние животные также могут быть носителями этих бактерий [1, 2, 4, 6]. Основные клинические проявления заболеваний человека, вызванных STEC, характеризуются как острые кишечные инфекции с проявлениями геморрагического колита и гемолитикоуремического синдрома. Основные симптомы этого синдрома у больных людей: снижение частоты мочеиспускания, чувство сильной усталости, анемия кожи и слизистых, развивается острая почечная недостаточность, гемолитическая анемия и тромбоцитопения. Лечение больных с гемолитикоуремическим синдромом для клиницистов является непростой задачей, поскольку антимикробная терапия пока не разработана. Смертность среди больных высокая и колеблется от 3 до 30 % [1, 5, 6, 7].

Заболевания, вызванные STEC, распространены во многих странах мира и регистрируются в виде спорадических случаев или вспышек с охватом больших количеств людей: от десятков до нескольких тысяч. Вспышки инфекции у человека возникают при употреблении пищевых продуктов животного происхождения, загрязненных патогенными эшерихиями в процессе убоя, переработки, упаковки, хранения и приготовления пищи. Возможно заражение людей при контакте с сельскохозяйственными и домашними животными, а также при непосредственном контакте с больными STEC-инфекцией. Штаммы этого вида кишечных палочек представляют серьезную угрозу жизни, особенно для пожилых людей и детей до 5 лет [5–7]. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно на территории США в среднем регистрируется до 72 000 случаев заболеваний людей, вызванных STEC, а число смертельных исходов составляет 2,5 % [1, 2, 7].

На международном уровне в США и странах ЕС для обеспечения безопасности пищевых продуктов существует требование по обязательному тестированию STEC в сырой говядине (Орган по безопасности пищевых продуктов в США (FSIS) и Европейская ассоциация по безопасности пищевых продуктов (EFSA)). Также рекомендуется тестировать и свинину [1, 7].

Продукция шигатоксинов (веротоксинов) является общим критерием для определения данной группы бактерий, а ключевым патогенным фактором этих эшерихий являются шигатоксины – Stx1 и Stx2, а также белок интимин (eae), ответственный за адгезию возбудителя к эпителиальным клеткам кишечника. Указанные гены являются основными генами-мишенями для диагностических ПЦР-тест-систем, используемых при идентификации STEC.

Группа возбудителей STEC в отличие от серовара O157:H7/O157:H не имеет каких-либо фенотипических маркеров, которые можно было бы использовать в качестве селективных при высеве анализируемых образцов на питательные среды. Это обстоятельство значительно затрудняет выделение и идентификацию возбудителей геморрагического колита и HUS, «не относящихся к O157:H7» [7].

В геноме этой группы патогенов, как правило, обнаруживают гены синтеза интимина – *eae* и гены веротоксинов (шигаподобных токсинов) – *stx1* и *stx2* (либо только *stx1* или *stx2*). Поэтому реально диагностировать группу STEC штаммов, «не относящихся к O157:H7», возможно либо только по обнаружению у них способности продуцировать шигатоксины, либо по индикации у них генов *stx1* и *stx2* [1, 2, 7]. В связи с этим актуальным вопросом является разработка специфического и быстрого способа обнаружения и идентификации шигатоксинпродуцирующих бактерий *E. coli* (STEC), а разработка быстрых и точных методов идентификации STEC на основе ПЦР является актуальной задачей.

Цель исследования – разработать ПЦР метода для идентификации STEC для применения в исследовании пищевых продуктов и продовольственного сырья, а также обнаружения патогенов в биологических образцах для выявления причины заболевания.

Материалы и методы исследований

Материалами исследований стали штаммы *E. coli*, выделенные из смывов с туш убойных животных, а также из мяса говяжьего и свиного. Разработку метода выявления дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) STEC проводили путем подбора высокоспецифических олигонуклеотидных праймеров с целью увеличения специфичности и чувствительности анализа.

Мы определяли STEC путем выявления присутствия одного или нескольких факторов вирулентности в исследуемом образце, в котором предполагается содержимое одного или более микроорганизмов, относящихся к этим бактериям в мультиплексном варианте полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием для этого нескольких олигонуклеотидных праймеров, специфичных для одного или нескольких факторов вирулентности. Для разработки тест-системы «*E. coli shiga toxin* – ПЦР-тест» рассчитали олигонуклеотидные праймеры с помощью программного обеспечения «Vector NTI» v.10.0.1 (Invitrogen) и синтезировали их в НПФ ЛИТЕХ» (Россия). Лиофилизированные праймеры разводили до концентрации 100 пкм/мкл «Ultra Pure Distilled Water» (Invitrogen, Cat. № 10977-023, США) и сохраняли при температуре –20 °С до использования. Концентрацию и чистоту полученных препаратов ДНК измеряли на спектрофотометре «NanoDrop 2000с» (США). ПЦР проводили на термоциклере «Терцик» (ДНК-технология, Россия) и «Т1» (Biometra, Германия). Электрофоретический анализ продуктов

ПЦР проводили путем разделения фрагментов ДНК в 1,5 %-ном геле агарозы (Sigma, США). Расположение полос ДНК на полученной электрофореграмме и их регистрацию выполняли с помощью системы гель-документирования «Molecular Image GelDoc XR +» (BioRad, США).

Результаты и их обсуждение

Для разработки олигонуклеотидных праймеров, специфичных к генам токсинов stx1, stx2 и интимину (eae), были отобраны и проанализированы последовательности генов с использованием баз данных GenBank, EMBL (Европейская молекулярно-биологическая библиотека), DDBJ (Японская база данных нуклеотидных последовательностей), PDB sequences. За основу были отобраны следующие последовательности: AB647443, AF022236, BA000007, ECOSTLII, AB647559, AB647430, AB647374, AB334567, AJ308552.1, AB647553.1, DQ523611.1, AB647374.1, H19BSLTA, KF771380.1, AB647493.1, AB647432.1, AB647437.1, AB647449.1, DQ523603.1, AB647365.1, EU700490.1, EF441598.1, EF441588.1.

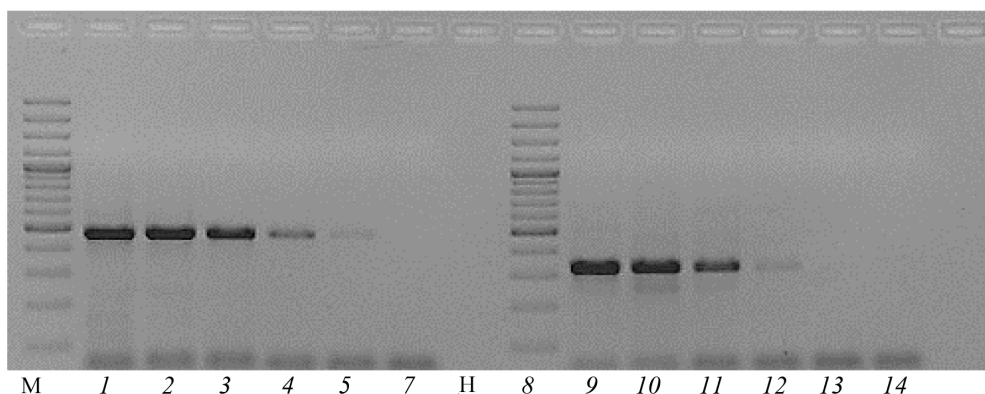
Большинство из приведенных праймеров содержат палиндромы и петли, а также склонны к образованию многочисленных гомо- и гетеродимера, что в целом влияет на специфичность реакции. Одновременное использование таких праймеров в мультиплексном варианте ПЦР не является эффективным. Правильный выбор олигонуклеотидных праймеров определяет эффективность и воспроизводимость ПЦР.

Мы подобрали наиболее специфические олигонуклеотидные праймеры, которые имеют следующую последовательность и представлены в таблице [3]. Эти праймеры, специфичные к генам токсинов stx1 и stx2 и eae (интимина), были проверены на чувствительность и специфичность электрофоретическим анализом в 1,5 %-ном геле агарозы за использование штаммов *E. coli* следующих серотипов: O19и, O20, O25, O26, O45, O55, O103, O111, O145 и два штамма серотипа O157. Концентрация очищенной ДНК в образцах была определена спектрофотометрически и составила для штамма O145 – 22,28 нг/0,001 см³ (ген eae). Концентрация очищенной ДНК в образцах для штамма O157 (ген stx2) равнялась 20,70 нг/0,001 см³. Для проверки специфичности и чувствительности синтезированных праймеров как возможного источника целевых генов были использованы штаммы *E. coli* различных серотипов из коллекций отдела биотехнологии и контроля качества бактериальных препаратов Государственного научно-контрольного института биотехнологии и штаммов микроорганизмов и Национального центра штаммов микроорганизмов. Специфичность праймеров подтвердили на тестовых штаммах гетерологичных микроорганизмов: *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus anthracis*, *Campylobacter jejuni*, *Pasterella multocida* и *Yersinia enterocolitica*. В результате проведенных исследований ген stx2 был обнаружен в одном штамме *E. coli* серотипа O157, а ген eae – у штамма *E. coli* серотипа O145 и одного из двух штаммов серотипа O157. Как отрицательный контроль был использован штамм *E. coli* серотипа O19и (см. рисунок).

**Последовательности олигонуклеотидных праймеров,
специфичных к генам токсинов (stx2, stx1) и интимину (eae)
шигатоксинпродуцирующих вариантов *E. coli***

Ген	Праймер	Последовательность (5'→3')	T_m , °C	Размер фрагмента, п. н.
eae	dF-eae	CGCTCTTGGTATCGCTGGTAAC	53,1	327
	dR2-eae	TAGTCTCGCCAGTATTCGCCAC	53,9	
stx2	dF1-stx2	CCATGACAACGGACAGCAGT	53,1	466
	dR3-stx2	ATCTGACATTCTGGTTGACTCTCTTC	53,9	
stx1*	7d-stx1_F	CGTGTTGCAGGGATCAGTCG	54,3	728
	dstx1-r3	CGCACTGAGAAGAAGAGACTGAAG	56,3	
	d-stx1-f1	GCAAAGACGTATGTAGATTCGCTG	53,2	796
	d-stx1-R2	CAGTTACACAATCAGGCGTCG	55,0	

*Пары праймеров 7d-stx1-F/dstx1-r3 и dstx1-f1/ dstx1-R2 являются альтернативными.



Определение чувствительности праймеров к генам stx2 и eae с препаратами очищенной ДНК бактерий *E. coli*: М – маркер «100 bp Plus DNA Ladder» (Fermentas). Штамм O157: 1 – 207 нг ДНК; 2 – 20,7 нг ДНК; 3 – 2,1 нг ДНК; 4 – 0,21 нг ДНК; 5 – 0,021 нг ДНК; 7 – отрицательный контрольный образец штамм O145; 8 – 222,8 нг ДНК; 9 – 22,28 нг ДНК; 10 – 2,23 нг ДНК; 11 – 0,22 нг ДНК; 12 – 0,02 нг ДНК; 13 – 0,002 нг ДНК; 14 – отрицательный контрольный образец

В исследуемых образцах с помощью мультиплексирования варианта ПЦР были выявлены специфические праймеры ДНК для использования при проведении ПЦР.

Заключение

Разработаны варианты пар праймеров высокоспецифические к таким факторам вирулентности STEC, как stx1, stx2, eae с усиленными целевыми последовательностями нуклеиновых кислот, которые могут быть использованы для мультиплексного ПЦР метода, что положительно влияет на его эффективность.

Литература

1. Бергилевич, О. М. Маркеры патогенности *E. coli* O157: H7 и основные гены-мишени для диагностики этого микроорганизма в говядине ПЦР тест-системой / О. М. Бергилевич, В. В. Касянчук, О. М. Ефимова // Проблемы зооинженерії та ветеринарної медицини : зб. наук. праць / Харків. держ. зоовет. акад. – 2014. – Вип. 28, ч. 2. – С.188–192.
2. Идентификация и дифференциация энтерогеморрагических *E. coli* и *E. coli* O157:H7 методом полимеразной цепной реакции / М. Б. Брюсова [и др.] // Сб. науч. тр. ВГНКИ, 2005. – Т. 66. – С. 161–166.
3. A novel multiplex PCR system for the detection of virulence associated genes of *E. coli* O157:H7 from food system / V. Puttalingamma [et al.] // Recent Research in Science and Technology. – 2012. – № 4(5). – P. 36–40.
4. Armstrong, G. L. Emerging Foodborne Pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a Model of Entry of a New Pathogen into the Food Supply of the Developed World / G. L. Armstrong, J. Hollingsworth, Jr. J. G. Morris // Epidemiologic Reviews. – 1996. – Vol. 18, № 1. – P. 29–51.
5. Fischer Walker, C. L. Haemolytic-Uraemic Syndrome as a Sequela of Diarrhoeal Disease / C. L. Fischer Walker, J. A. Applegate, R. E. Black // Journal of Health, Population and Nutrition. – 2012. – Vol. 30, № 3. – P. 257–261.
6. March Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7 / S. Ratnam [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1988. – № 26. – P. 2006–2012.
7. Non-O157:H7 pathogenic Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: phenotypic and genetic profiling of virulence traits and evidence for clonality / H. Schmidt [et al.] // J. Infect. Dis. – 1999. – Vol. 179. – P. 115–123.

Поступила 02.07.2017 г.

УДК 619:616.98:578.824.11

О. В. Анисина

МЕТОД ТОЧЕЧНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНА ВИРУСА БЕШЕНСТВА

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности», пос. Биокомбината, Щелковский р-н,
Московская обл., Россия

Введение

Бешенство животных — высококонтагиозное заболевание, передающееся при укусе или ослюнении поврежденных поверхностей кожи или слизистых оболочек. Своевременное выявление вируса бешенства в слюне животных до проявления клинических признаков обеспечивает эффективность лечебно-профилактических мероприятий. Большинство методов, таких как метод флюоресцирующих антител, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, выделение вируса *in vitro*, рекомендуемых Комитетом экспертов Всемирной организации здравоохранения для диагностики бешенства, предназначено в основном для постмортальной диагностики и требует специального оборудования и высокой квалификации исследователей [3, 5]. Эффективность

интравитальной индикации вируса бешенства в эпителиальных клетках роговицы глаза, в биоптатах кожи, слюне, спинномозговой жидкости рассматривалась лишь в единичных работах [1, 2, 4, 6, 7]. Нами изучена возможность выявления вируса бешенства в слюне на основе точечного иммунного анализа на нитроцеллюлозных мембранах с сорбированными специфическими к рибонуклеопротеину (РНП) вируса бешенства антителами и применением конъюгата анти-РНП антител с ферментом пероксидазой (dot-ELISA) и частицами коллоидного золота.

Материалы и методы исследований

Очищенный вирус бешенства получали центрифугированием мозговой суспензии мышей, павших после интрацеребрального заражения вирусом штамм CVS (ВГНКИ). Препарат РНП выделяли по методу (Helenus, Soderlund, 1973) ультрацентрифугированием очищенного и концентрированного вируса бешенства в градиенте 10–60 % сахарозы. Для постановки точечного анализа использовали пробы слюны клинически здоровых собак, в которые вносили в лизирующем буфере очищенный мозговой вирус бешенства штамм CVS с исходной инфекционностью $10^{3.8}$ LD₅₀/0,03 мл.

Анти-РНП антитела выделяли из сыворотки крови морских свинок, иммунизированных препаратом РНП, на сорбенте *Protein A – Agarose CL-4B* согласно рекомендациям фирмы изготовителя («Fluka»).

Для формирования тестируемой полоски сорбировали анти-РНП антитела, контрольной – IgG нормальной сыворотки морской свинки; полоски промывали, блокировали свободные центры связывания раствором сывороточного альбумина крупного рогатого скота (БСА), после промывки высушивали на воздухе и хранили при температуре 4 °С.

Конъюгат анти-РНП антител с ферментом пероксидазы $R_z \geq 3,0$ (ООО «НИЦ Росбио») получали по P. Nakane and A. Kawaio (1974) с частицами коллоидного золота – по G. T. Hermanson (1996) с некоторыми модификациями. Коллоидное золото получали кипячением раствора золотохлористо-водородной кислоты с цитратом натрия по J. Turkevich и др. (1951).

Точечный твердофазный иммуноферментный анализ (dot-ELISA) проводили по Tovbin H., Cordon J. (1984) с некоторыми модификациями. Точечный анализ с применением частиц коллоидного золота проводили по D. Brada (1984) с некоторыми модификациями. За положительный результат анализа принимали появление четкого окрашенного пятна на тестируемой полоске при отсутствии окраски на контрольной полоске.

Результаты и их обсуждение

Методом ультрацентрифугирования при 40 тыс. об/мин в течение 60 мин 20,0 %-ной мозговой суспензии мышей, павших после заражения вирусом бешенства, был получен препарат очищенного и концентрированного вируса с инфекционностью $10^{3.8}$ LD₅₀/0,03 мл.

Обработкой очищенного и концентрированного вируса бешенства 2,0 %-ным раствором тритона X-100 и ультрацентрифугированием в 10,0–60,0 %-ном градиенте сахарозы было получено 45 мл препарата РНП с концентрацией белка 2,1 мг/мл. Титр комплементсвязывающих антител в сыворотке крови иммунизированных морских свинок препаратом РНП составил 1:64–1:128.

Методом аффинной хроматографии на сорбенте *Protein A – Agarose CL-4B* получены препараты анти-РНП IgG антител с содержанием белка 0,2–0,5 мг/мл и IgG нормальной сыворотки крови морской свинки – 0,5 мг/мл.

Результатами экспериментальных исследований установлено, что для обеспечения эффективного связывания искомого антигена в пробах с иммобилизованными на мембране специфическими анти-РНП антителами в состав буферного раствора для приготовления проб слюны оптимальным было включение тритона X-100 в 0,1 %.

Методика выявления вируса бешенства методом dot-ELISA включала нанесение на тестируемую и контрольную нитроцеллюлозные полоски по 50 мкл пробы слюны в лизирующем буфере и инкубация в течение 1 ч, промывка; нанесение и инкубация при комнатной температуре в течение 1 ч анти-РНП – пероксидазного конъюгата, промывка; проявление реакции с помощью субстратно-индикаторного раствора, содержащего 0,1 % диаминобензидина. Появление через 30 мин коричневого окрашивания на тестируемой полоске при отсутствии окрашивания на контрольной свидетельствует о наличии антигена вируса бешенства в пробе. Аналитическая чувствительность тест-системы на основе dot-ELISA составила $10^{2.3}$ LD₅₀/0,03 мл выявляемого вируса.

С целью сокращения времени исследования и количества реагентов по сравнению с dot-ELISA нами изучена возможность проведения анализа с применением конъюгата анти-РНП антител с частицами коллоидного золота. Аналитическая чувствительность тест-системы на основе точечного анализа с применением частиц коллоидного золота составила $10^{1.7}$ LD₅₀/0,03 мл выявляемого вируса.

Заключение

Оценена возможность выявления антигена вируса бешенства в экспериментальных пробах слюны с помощью тест-системы на основе точечного анализа на нитроцеллюлозных мембранах. Результаты сравнительного анализа тест-систем показали, что тест-система с применением частиц коллоидного золота позволяет выявлять вирус бешенства в пробах слюны быстрее и с большей чувствительностью, чем тест-система на основе dot-ELISA.

Литература

1. Ковалев, Н. А. Иммунофлуоресцентное исследование отпечатков рогаковицы при бешенстве / Н. А. Ковалев, А. С. Шашенько // Ветеринария. – 1970. – № 9. – С. 44–46.
2. Разработка и внедрение экспресс-методов иммунологического мониторинга при бешенстве / Н. А. Хисматуллина [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2001. – № 5. – С. 45–48.

3. Evaluation of a rapid immunodiagnostic test kit for rabies virus / B. K. Kang [et al.] // J. Virol. Meth. – 2007. – Vol. 145. – P. 30–36.
4. Hawkes, R. A dot immunoblotting assay for monoclonal and other antibodies / R. Hawkes, E. Niday, J. Gordon // Analyt. Biochem. – 1982. – Vol. 119. – P. 142–147.
5. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals // OIE Terrestrial Manual, 2008. – Part 2, section 1, chapter 2.1.13. – P. 304–323.
6. Schneider, L. G. The cornea test: a new method for the intra-vital diagnosis of rabies / L. G. Schneider // Zentrabl. Veterinaer. Med. – 1969. – № 16. – P. 24–31.
7. Zimmerman, J. Zur brauchbarkeit des cornea test zur Tollwut diagnose / J. Zimmerman // Berl. Munch. Tierarztl. Eachr. – 1971. – Vol. 84, № 9. – P. 172–174.

Поступила 30.06.2017 г.

УДК 619:616.98:578.826.2-07:636.4

**П. А. Красочко¹, С. В. Жаворонок², П. П. Красочко¹,
Д. С. Борисовец³, Т. М. Прокопенкова³**

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ IG-АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ГЕПАТИТА Е У СВИНЕЙ МЕТОДОМ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА

¹УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия
ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь

³РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелецкого»,
г. Минск, Беларусь

Введение

По современным представлениям гепатит Е уже давно рассматривается как инфекционное заболевание, которое выявляется в развивающихся странах. Вирус гепатита Е генотипа 3 был выделен от пациентов (американцев) в США в 1997 г., а его природным резервуаром являются свиньи. Различные штаммы вируса гепатита Е были выделены от человека, а также от различных видов животных – домашних свиней, диких кабанов, мангустов, кроликов, верблюдов, кур, крыс, оленей, летучих мышей, хорьков, овец. Все штаммы относятся к семейству *Неревиридае*, которое было впервые описано в 2012 г. [1].

Вирус гепатита Е (HEV) является безоболочечным вирусом, содержащим РНК-геном 7,2 кб, который состоит из 5'-некодирующей области, трех открытых рамок считывания (ORFs) и 3'-некодирующей области [1, 2, 5].

Вирус гепатита Е успешно культивируется в клеточных линиях. Он может индуцировать как хронический гепатит, так и внепеченочные синдромы.

Анти-HEV антитела появляются при острой HEV инфекции и могут сохраняться в течение нескольких лет.

Полученные данные про ВГЕ-подобные вирусы в животном мире являются достаточно интересными и заслуживают дальнейшего внимания, особенно потому, что гепатит Е признан зоонозной инфекцией, с резервуарами у домашних свиней и диких кабанов, а также, вероятно, других видов животных [1]. Вызывают опасения последствия повсеместного наличия циркуляции ВГЕ у животных, имеющих отношение к производству пищевых продуктов (домашние свиньи и дикие кабаны, кролики, олени и многие другие виды животных), что может привести к употреблению инфицированных продуктов человеком, прямому контактированию человека с инфицированными животными, загрязнению окружающей среды и поверхностных вод фекалиями животных [1–4].

Штаммы ВГЕ свиней, особенно те, которые определены в промышленно развитых странах, часто связаны со случаями заболевания человека, в которых не было выявлено какого-либо конкретного источника инфекции [2, 3].

Таким образом, необходимость разработки системы его диагностики вируса гепатита Е для изучения его циркуляции на территории Республики Беларусь не вызывает сомнения.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в условиях отдела вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского», НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии и кафедры эпизоотологии УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины».

Для конструирования тест-системы для выявления антител к вирусу гепатита Е у свиней на первом этапе провели определение антител к вирусу гепатита Е в сыворотках свиней. Сыворотки крови от клинически здоровых свиней и свиней с поражением печени были исследованы на наличие антител классов IgG и IgM к ВГЕ (anti-HEV-IgM, anti-HEV-IgG) с использованием наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск).

Постановку ИФА проводили следующим образом: в лунки планшета вносили положительный и отрицательный контроли и исследуемые образцы сывороток в разведении 1:10, инкубировали 30 мин при температуре 37 °С, промывали 5 раз. Затем добавляли раствор конъюгата. Для исследования сывороток крови животных вместо антиглобулинового конъюгата использовали раствор белка А стафилококка, конъюгированного с пероксидазой хрена. Инкубировали 30 мин при температуре 37 °С, промывали 5 раз и добавляли субстрат (тетраметилбензидин). Инкубировали при комнатной температуре в течение 25 мин. Затем добавляли серную кислоту (стоп-реагент). Инкубацию ИФА-планшетов проводили в термошейкере «Dialab». Для промывки использовали автоматическое промывающее устройство «BiosanIW-8». Спектрофотометрическое измерение результатов реакции проводили на приборе Stat Fax 3200.

Для сенсibilизации полистироловых панелей использовали генноинженерные полипептиды ОРФ-2 и ОРФ-3 с антигенной последовательностью вируса гепатита Е генотипа 1, конъюгированные с бета-галактозидазой, полученные из ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова Российской академии медицинских наук» (г. Москва). Конъюгат белка А стафилококка получали из фирмы «Thermo Fisher Scientific» (США).

Результаты и их обсуждение

При конструировании тест-системы для выявления антител к вирусу гепатита Е в сыворотках крови свиней исследования проведены в несколько этапов.

На первом этапе исследований осуществлён подбор концентраций и буфера для сорбции полипептидов ОРФ-2 и ОРФ-3 на полистироловые планшеты после предварительной обработки их ультрафиолетовым излучением для повышения адгезивности для сорбции рекомбинантного антигена. Проведены отработка условий нанесения антигенов на планшеты, а также подбора его оптимальной концентрации. Установлено, что оптимальная концентрация полипептидов для сорбции полипептидов ОРФ-2 и ОРФ-3 на полистироловые планшеты составляет 8 мкг/мл в 0,005 М карбонатном буфере pH 9,5.

На втором этапе подобрано оптимальное разведение универсального конъюгата – белка А стафилококка с пероксидазой хрена для проявления тестируемых сывороток свиней.

Нами определено, что отправной точкой в оптимизации конъюгата является разведение исходного раствора в диапазоне 1:5000–1:50 000 (0,02–0,2 мкг/мл). Поэтому мы испытали следующие концентрации: 0,01, 0,1 и 0,3 мкг/мл.

В результате постановки реакции с набором сывороток для выявления антител против гепатита Е и использовании конъюгата – белка А стафилококка с пероксидазой хрена в различных разведениях было установлено, что высокая концентрация конъюгата приводит к значительному повышению оптической плотности отрицательного контроля, что сказывается на конечном результате в виде снижения диагностической чувствительности набора – слабо положительные пробы демонстрируют отрицательный результат. В связи с этим необходимо использовать меньшую концентрацию конъюгата.

При уменьшении концентрации конъюгата до 0,1 мкг/мл мы наблюдаем практически полное согласование результатов с изначально полученными с коммерческим набором. Кроме того, использование такой концентрации позволяет несколько повысить чувствительность метода – пробы, показывавшие отрицательный результат в исходном наборе, имеют слабо положительный результат в модифицированном методе.

Для оценки возможности использования меньшей концентрации конъюгата была испытана концентрация 0,01 мкг/мл аналогичным образом.

Снижение концентрации конъюгата до 0,01 мкг/мл снижает чувствительность набора. Изначально положительные пробы с низким содержанием антител

в данном варианте показывают отрицательный результат, что в итоге приводит к ложноотрицательным значениям.

На основании полученных результатов наиболее эффективной концентрацией конъюгата является 0,1 мкг/мл, которую в дальнейшем использовали для выявления антител свиней против вируса гепатита Е.

Многие ИФА тест-системы, предназначенные для мониторинга серологического статуса поголовья, имеют высокую чувствительность, что позволяет исследовать сыворотки пулом, т. е. объединять несколько проб в одну. В первую очередь на эту возможность влияет аффинность антител конъюгата: чем более аффинны антитела в конъюгате, тем меньшая концентрация их требуется для получения должного уровня оптической плотности, превышающего фоновый уровень. Такой подход позволяет сократить время и материальные ресурсы для скрининга большого количества образцов, при этом по своей чувствительности практически не уступает индивидуальному исследованию сывороток крови.

В связи с этим фактом нами была проверена возможность выявления антител свиньи в пуле с использованием конъюгата белка А стафилококка. Для этого применяли положительные сыворотки с разным содержанием антител и объединяли их с отрицательными (отбор и тестирование сывороток проводили с коммерческой тест-системой для выявления антител к вирусу гепатита Е). Использовали два варианта объединения; 1 положительная и 4 отрицательных; 1 положительная и 9 отрицательных. Обработку этих параметров проводили набором для выявления антител к гепатиту Е свиней.

Установлено, что объединение 5 сывороток крови не влияет на результат реакции, что свидетельствует о высокой аффинности конъюгата. При объединении 10 сывороток в одну пробу выявляются пробы, содержащие высокий и средний уровень антител, а также имеющие изначальный коэффициент связывания больше 26,5 %, который находится достаточно близко к пороговому значению.

Таким образом, в процессе исследований нами отработаны основные параметры конструирования тест-системы для выявления антител к вирусу гепатита Е у свиней и параметры постановки ИФА.

Заключение

Проведенные исследования по разработке тест-системы для выявления антител к вирусу гепатита Е у свиней показали, что в качестве антигена целесообразно использовать генно-инженерные полипептиды с антигенной последовательностью вируса гепатита Е генотипа 1, конъюгированные с бета-галактозидазой, полученные из ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И. И. Мечникова Российской академии медицинских наук», для сорбции полипептидов на полистироловые планшеты после предварительной обработки их ультрафиолетовым излучением для повышения

адгезивности для сорбции рекомбинантного антигена, в оптимальной концентрации полипептидов для сорбции на полистироловые планшеты – 8 мкг/мл в 0,005 М карбонатном буфере pH 9,5, а разведением универсального конъюгата – белка А стафилококка с пероксидазой хрена для проявления тестируемых сывороток свиней является 0,1 мкг/мл.

Литература

1. Руководство по вирусологии / под ред. акад. Рос. акад. наук Д. К. Львова. – М. : Изд-во «Мед. информ. агентство», 2013 – 1200 с.
2. Expression and characterization of hepatitis E virus-like particles and non-virus-like particles from insect cells / Y. Qi [et al.] // Biotechnol. Appl. Biochem. – 2015. – Vol. 63. – P. 362–370.
5. Identification of swine hepatitis E virus (HEV) and prevalence of anti-HEV antibodies in swine and human populations in Korea / I. S. Choi [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41. – P. 3602–3608.
3. Pavio, N. Zoonotic hepatitis E: animal reservoirs and emerging risks / N. Pavio, X. J. Meng, C. Renou // Vet. Res. – 2010. – Vol. 41. – P. 46.
4. Prevalence of hepatitis E virus antibodies in Canadian swine herds and identification of a novel variant of swine hepatitis E virus / D. Yoo [et al.] // Clin. Diagn. Lab. Immunol. – 2001. – Vol. 8. – P. 1213–1219.

Поступила 10.07.2017 г.

УДК 571.27

И. А. Соболев, А. М. Шестопалов

ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ БЫСТРОЙ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ МЕТОДОМ ИММУНОХРОМАТОГРАФИИ

*Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины,
г. Новосибирск, Россия*

Быстрая и удобная диагностическая тест-система для индивидуального использования является актуальной практически для любых медицинских и ветеринарных вирусных инфекций. Наличие такой тест-системы позволит фермеру, частному предпринимателю, да и просто любому гражданину быстро провести предварительный анализ на то или иное заболевание у животных и человека.

Нами на примере наиболее распространенного вирусного заболевания человека – гриппа, разработан опытный образец такой тест-системы. Наличие такого прототипа тест-системы позволит, используя другие специфические компоненты, создать диагностический препарат на любую актуальную вирусную инфекцию.

Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) – самая частая патология, встречающаяся вне зависимости от возраста, места проживания и социального статуса человека. В среднем в течение года взрослый человек болеет ОРВИ не реже 2–3 раз, ребенок – до 6–10 раз. Как правило, грипп в структуре респираторной вирусной заболеваемости составляет около 20,0 %.

В настоящее время существует несколько методов идентификации возбудителей инфекционных заболеваний в целом и вируса гриппа в частности (рис. 1).

Эффективное использование большинства методов диагностики ограничено несколькими лимитирующими факторами: время, требуемое на проведение анализа, необходимость использования специализированного оборудования, сложность применения метода и потребность в квалифицированном персонале, а также отсутствие возможностей для индивидуальной диагностики.

В частности, накопление вируса на чувствительной культуре клеток (культуральный метод) широко используется в вирусологических лабораториях и позволяет изолировать штаммы инфекционных агентов, но требует значительного времени (несколько дней), а также специального оборудования (ламинарные шкафы, CO₂-инкубаторы, питательные среды). Кроме того, к ограничениям метода можно отнести необходимость подготовки квалифицированного персонала. Таким образом, культуральный метод целесообразно использовать в работе вирусологических лабораторий, но не на базе ЛПУ (лечебно-профилактические учреждения, поликлиники). Применение иммуноферментного и иммунофлуоресцентного анализа [1], использование микрочипов [2], серологических методов [3] и полимеразной цепной реакции [4] возможно не только в исследовательских лабораториях, но и на базе ЛПУ. Однако все же использо-

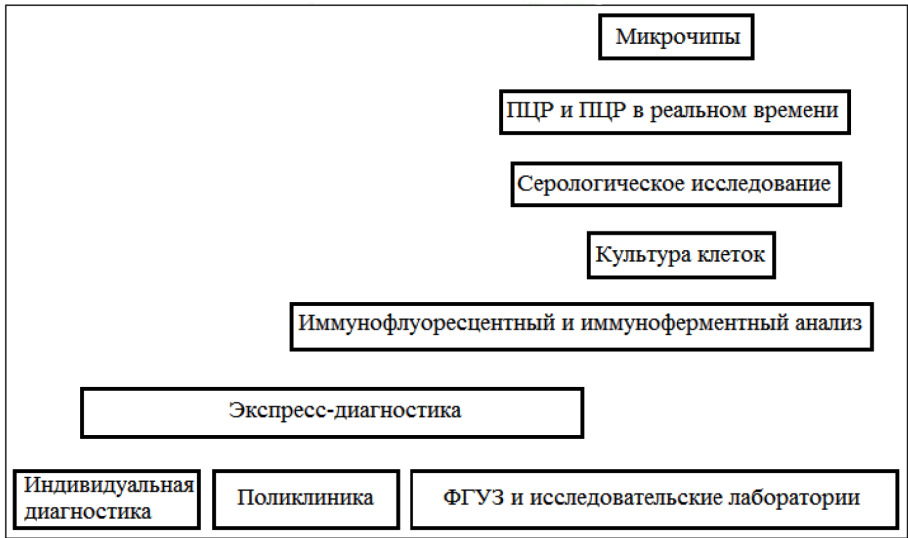


Рис. 1. Основные методы идентификации инфекционных агентов

вание этих методов ограничено потребностью в приборной базе и необходимостью подготовки квалифицированного персонала. Кроме того, в зависимости от метода затраты времени на анализ составляют от одного до нескольких часов.

Из всех современных методов выявления вируса гриппа наиболее точным (специфичность достигает 100 %, а чувствительность метода позволяет обнаруживать 10–100 копий гена) и наиболее широко используемым является полимеразная цепная реакция (ПЦР). Именно ПЦР, согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения, является предпочтительным методом обнаружения вирусов гриппа. Простота методологии и необходимая приборная база позволяют использовать ПЦР как в исследовательских лабораториях, так и в ЛПУ. Вариативность метода расширяет рамки его использования в зависимости от приборной базы: для обнаружения РНК вируса гриппа в клинических образцах может быть использовано несколько вариантов ПЦР, отличающихся необходимым оборудованием и временными затратами. Наибольших затрат времени требует «классическая» методика ПЦР со специфическими праймерами [5, 6] и последующим выявлением продуктов реакции методом электрофореза в агарозном геле. ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией результатов в режиме реального времени или по конечной точке [7, 8] требуют дорогостоящего оборудования, но значительно сокращают время, необходимое на исследование образцов. ПЦР осуществляется на матрице кДНК, синтезированной с вирусной РНК. Обычно стадии обратной транскрипции (синтез кДНК) и непосредственно ПЦР разделены, т. е. процесс выявления и идентификации РНК вируса гриппа является двухстадийным. Однако могут быть использованы реакционные смеси для проведения обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) одношаговым методом, что снижает затраты времени на анализ.

Можно резюмировать, что основные методы идентификации вируса могут эффективно применяться на базе исследовательских и надзорных лабораторий, но в большинстве случаев недоступны и неудобны для использования на базе ЛПУ и тем более для индивидуальной диагностики. Для быстрой первичной идентификации вируса могут быть использованы иммунохроматографические тесты (ИХТ). Метод удобен для индивидуального использования и позволяет наиболее быстро (10–15 мин) осуществить дифференцированную диагностику вируса гриппа с наименьшими финансовыми затратами [9].

Действие ИХТ основано на принципе горизонтального потока иммунореагентов («lateral flow») [10]. Общие принципы прикладного использования принципа горизонтального потока иммунореагентов известны и хорошо изучены [11–13]. Метод горизонтального потока иммунореагентов широко используется в тест-системах для быстрой диагностики различных заболеваний, основанных на детекции специфических белков, а также для определения беременности и выявления наркотических веществ в организме.

Применительно к инфекционным заболеваниям ИХТ позволяют обнаруживать как антигены, так и антитела. В первом случае на диагностическую

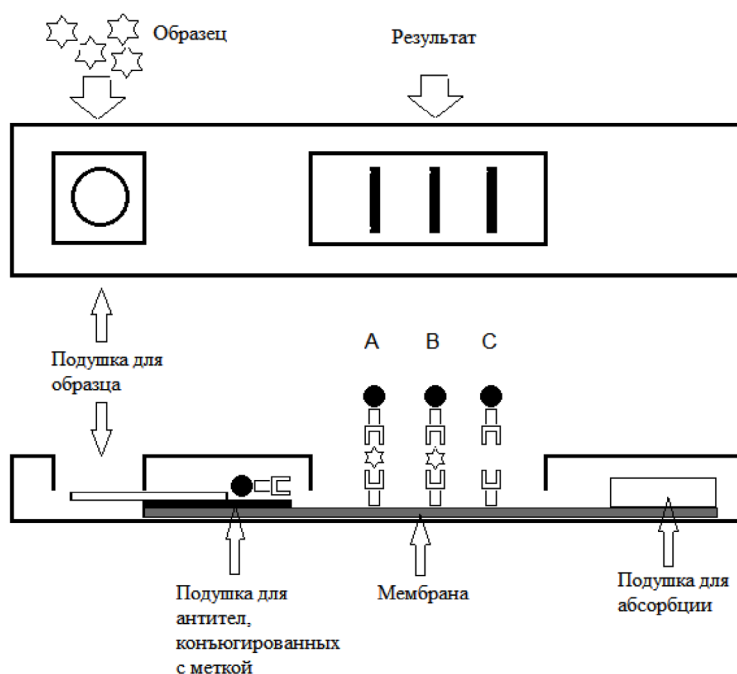


Рис. 2. Принципиальная схема ИХТ для выявления двух белков-антигенов (А и В). С – контроль. При положительном результате наблюдается три (А, В, С) или две (А/В, С) цветных полосы, а при отрицательном результате – одна (С) цветная полоса

панель, представляющую собой пористую мембрану (например, на основе нитроцеллюлозы), наносится исследуемый образец (рис. 2), предположительно содержащий белок-антиген, который взаимодействует со специфическими антителами, конъюгированными с цветной меткой (коллоидное золото, коллоидное серебро или другие микрочастицы). Комплекс «антиген–антитело–метка» под действием капиллярных сил диффундирует по мембране до тестовой зоны, содержащей иммобилизованные специфические антитела к определяемому антигену, и взаимодействует с иммобилизованными антителами с образованием цветной полосы. При отсутствии в образце детектируемого антигена цветной полосы не образуется.

Второй вариант использования метода горизонтального потока иммунореагентов подразумевает определение в образце наличия антител (например, вырабатывающихся в организме в ответ на инфекцию) [14]: в этом случае на мембране тест-системы расположены антигены (свободные – конъюгированные с меткой и иммобилизованные – без метки).

Для обнаружения вируса, в том числе и вируса гриппа, целесообразно применять вариант с выявлением вирусных антигенов, где в качестве антигена-мишени для гриппа используется белок NP (нуклеопротеин). Основным компонент РНП комплекса, который связывается с вновь синтезированными вирусными

РНК в клеточном ядре, входит в состав транскриптазного комплекса наряду с вирусными субъединицами полимеразы PB1, PB2 и PA, принимает участие в репликации вирусной РНК [15]. Нуклеопротеин вируса гриппа является высококонсервативным белком [16–19] и при этом тип-специфичным, т. е. использование моноклональных антител против нуклеопротеинов различных типов вируса гриппа (А и В) – позволяет специфично определять типовую принадлежность вируса.

При неоспоримых достоинствах (скорость и простота анализа) ИХТ имеют серьезные недостатки. В частности, существующие ИХТ для выявления вирусов гриппа значительно уступают молекулярным методам диагностики (ПЦР) по чувствительности. При анализе посредством ИХТ не происходит амплификация исследуемого материала и, следовательно, эффективность обнаружения белков вируса гриппа зависит от количества вирионов в образце. Кроме того, при визуальной оценке результата (особенно при недостаточно большом числе вирионов в исследуемом клиническом образце) имеет место субъективное восприятие. Однако при отсутствии возможностей для использования более точных методик детекции вируса или при необходимости получения результата максимально быстро, т. е. для первичной диагностики, применение ИХТ обоснованно и целесообразно.

Таким образом, разработанный метод выявления вируса гриппа (ИХТ) позволит использовать отработанную методологию создания тест-систем для индивидуального применения к другим, в том числе и ветеринарным, вирусным инфекциям.

Литература

1. Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, indirect immunofluorescence assay, and virus isolation for detection of respiratory viruses in nasopharyngeal secretions / S. Takimoto [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 1991. – Т. 29, № 3. – Р. 470–474.
2. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray / M. Schena [et al.] // *Science.* – 1995. – Т. 270, № 5235. – Р. 467–470.
3. WHO. Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. – 2002.
4. Mahony, J. B. Molecular diagnosis of respiratory virus infections / J. B. Mahony, A. Petrich, M. Smieja // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* – 2011. – Т. 48, № 5–6. – Р. 217–249.
5. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses / E. Hoffmann [et al.] // *Arch. Virol.* – 2001. – Т. 146, № 12. – Р. 2275–2289.
6. A reverse transcription-PCR for subtyping of the neuraminidase of avian influenza viruses / B. F. Qiu [et al.] // *J. Virol. Methods.* – 2009. – Т. 155, № 2. – Р. 193–198.
7. Spackman, E. Type A influenza virus detection and quantitation by real-time RT-PCR / E. Spackman, D. L. Suarez // *Methods Mol. Biol.* – 2008. – Т. 436. – Р. 19–26.
8. A sensitive one-step real-time PCR for detection of avian influenza viruses using a MGB probe and an internal positive control / L. Di Trani [et al.] // *BMC Infect Dis.* – 2006. – Т. 6. – Р. 87.
9. WHO. Influenza Rapid Diagnostic Tests. – 2010.
10. Leuvering, J. H. Sol particle immunoassay (SPIA) / J. H. Leuvering [et al.] // *J. Immunoassay.* – 1980. – Т. 1, № 1. – С. 77–91.
11. Van Amerongen, A. Colloidal carbon particles as a new label for rapid immunochemical test methods: quantitative computer image analysis of results / A. van Amerongen [et al.] // *J. Biotechnol.* – 1993. – Т. 30, № 2. – Р. 185–195.

12. A rapid lateral flow immunoassay for the detection of fungal alpha-amylase at the workplace / M. Koets [et al.] // J. Environ Monit. – 2006. – Т. 8, № 9. – P. 942–946.
13. Tools for diagnosis, monitoring and screening of Schistosoma infections utilizing lateral-flow based assays and upconverting phosphor labels / P. L. Corstjens [et al.] // Parasitology. – 2014. – Т. 141, № 14. – P. 1841–1855.
14. Development of a lateral flow assay for rapid detection of bovine antibody to Anaplasma marginale / K. Nielsen [et al.] // J. Immunoassay Immunochem. – 2008. – Т. 29, № 1. – P. 10–18.
15. Evolution and ecology of influenza A viruses / R. G. Webster [et al.] // Microbiol. Rev. – 1992. – Т. 56, № 1. – P. 152–179.
16. Zheng, M. Development of universal influenza vaccines based on influenza virus M and NP genes / M. Zheng, J. Luo, Z. Chen // Infection. – 2014. – Т. 42, № 2. – P. 251–262.
17. Influenza A virus nucleoprotein is a major target antigen for cross-reactive anti-influenza A virus cytotoxic T lymphocytes / J. W. Yewdell [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 1985. – Т. 82, № 6. – P. 1785–1789.
18. Evolution of the nucleoprotein gene of influenza A virus / O. T. Gorman [et al.] // J. Virol. – 1990. – Т. 64, № 4. – P. 1487–1497.
19. Shu, L. L. Analysis of the evolution and variation of the human influenza A virus nucleoprotein gene from 1933 to 1990 / L. L. Shu, W. J. Bean, R. G. Webster // J. Virol. – 1993. – Т. 67, № 5. – P. 2723–2729.

Поступила 28.06.2017 г.

**АССОЦИАТИВНЫЕ БОЛЕЗНИ ИНФЕКЦИОННОЙ,
ПАЗАРИТАРНОЙ И НЕЗАРАЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ**

УДК 619:616.9-091-07-084:636.5.053

В. С. Прудников, Н. О. Лазовская, А. В. Прудников

**ОСНОВНЫЕ ПРИЧИНЫ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ
АССОЦИИРОВАННОГО ТЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ
БОЛЕЗНЕЙ У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ**

*УО «Витебская ордена “Знак почета” государственная академия
ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь*

Введение

В настоящее время выращивание цыплят-бройлеров на крупных птицеводческих фабриках требует максимальной оперативности ветеринарной службы, прежде всего, в быстрой и правильной постановке нозологического диагноза, поскольку от этого зависит успех проведения лечебно-профилактических мероприятий по оздоровлению поголовья. Большая концентрация птиц на ограниченных территориях влечет за собой ряд существенных изменений в закономерности течения эпизоотических процессов, поэтому в настоящее время в инфекционной патологии все большую роль играют ассоциированные инфекционные болезни, вызванные двумя или несколькими вирусными и бактериальными агентами [1, 3, 5]. Важное значение в иммунной защите имеет качество кормления птицы. Так, по результатам наших исследований и данных литературы [2, 4] наличие в кормах микотоксинов оказывает отрицательное влияние на организм птиц: охратоксины поражают печень и почки, у цыплят развивается катаральный энтерит, наблюдается гипотрофия, истощение и дегидратация. Микотоксины – трихотецены – поражают нервную систему, вызывая неестественное положение крыльев, припадки, неспособность цыпленка вставать после того, как его кладут на спину, воспаление и некротические поражения слизистых оболочек ротовой полости, зоба, зернистую и жировую дистрофии печени, почек и миокарда. Зеараленоны способны вызывать выворачивание клоаки, а фумонизины – дистрофические и некротические поражения печени, остеопороз, поносы, истощение.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили на трупах цыплят-бройлеров, доставленных в прозекторий кафедры патологической анатомии и гистологии с птицефабрик Республики Беларусь в 2016–2017 гг. с целью установления причины заболевания и падежа. При исследованиях проводили анализ кормления, изучали патологоанатомические и гистологические изменения в органах и тканях. Всего было исследовано 218 цыплят в возрасте от 15 до 45 дней.

Для проведения гистологического исследования зафиксированный в 10 %-ном растворе нейтрального формалина патматериал подвергали обезвоживанию и инфильтрации парафином, затем изготавливали гистологические срезы на специальном оборудовании Mikrom International GmbH, согласно инструкции, с последующей окраской гематоксилин-эозином. Часть гистопрепаратов получали из замороженного патматериала на санном микротоме. Микроскопию гистологических срезов осуществляли с помощью микроскопа «Olympus» модели BX-41.

Одновременно для подтверждения нозологического диагноза в областных ветлабораториях проводили вирусологическое, бактериологическое и микотоксилогическое исследование патматериала.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований нами установлено, что вирусные и бактериальные болезни у цыплят часто протекают в ассоциации, что связано с ослаблением иммунной защиты по причине неполноценного и несбалансированного по основным питательным веществам рациона, а также при недостаточном введении в концентрированные корма адресных адсорбентов микотоксинов и при длительном включении в рационы (более 10 дней) рапсосодержащих кормов с наличием в них эруковой кислоты, которая, являясь антогонистом селена, препятствует усвоению его организмом, развивается жировая дистрофия печени и, иногда, беломышечная болезнь.

Степень отрицательного влияния микотоксинов на организм птиц во многом зависит от вида токсина. Так, при наличии в комбикормах афлатоксинов у птиц снижается аппетит, отмечается высокая летальность молодняка вследствие наслоения инфекционных болезней.

В печени цыплят под действием микотоксинов и рапсосодержащих кормов с наличием эруковой кислоты выявлены зернистая, крупно- и мелкокапельная жировые дистрофии, очаговый некробиоз и некроз гепатоцитов, дискомплексация балочного строения, у отдельных цыплят – очаговые лимфоидно-макрофагальные пролифераты. В почках наблюдается белково-липидный, иногда некротический нефроз, очаговый серозный гломерулит, очаговые некрозы почечных клубочков. В сердце отмечены зернистая дистрофия миокарда и очаговый серозный миокардит.

При патологоанатомическом вскрытии трупов цыплят-бройлеров, получавших комбикорма с микотоксинами, нами часто были выявлены изменения, характерные для наложения 2–4 болезней заразной этиологии. Так, ассоциативное течение гемофилеза, респираторного микоплазмоза, эшерихиоза и эймериоза характеризовалось катаральным, катарально-гнойным ринитом (гемофилез), серозным, серозно-гнойным конъюнктивитом, кератитом, паннофтальмитом (гемофилез), серозными отеками в подкожной клетчатке (гемофилез), катаральным, катарально-гнойным стоматитом, фарингитом, ларинготрахеитом (гемофилез), катаральной, крупозно-некротической пневмонией (респираторный микоплазмоз), фибринозным ринитом, трахеитом, аэросаккулитом (респираторный микоплазмоз), фибринозным перикардитом, перигепатитом, периспленитом (эшерихиоз), септической селезенкой (эшерихиоз), катарально-геморрагическим тифлитом и энтероколитом (эймериоз), зернистой дистрофией печени, почек и миокарда (при всех болезнях), очаговыми некрозами в печени (респираторный микоплазмоз), жировой дистрофией печени и почек (кормотоксикоз), истощением и общей анемией (при всех болезнях).

При ассоциативном течении реовирусного теносинновита, болезни Марека и стрептококкоза нами были выявлены следующие патоморфологические изменения: серозно-геморрагический отек подкожной, межмышечной и эпикардальной клетчатки (стрептококкоз), серозно-геморрагический перикардит, плевроперитонит (стрептококкоз), катаральный энтерит (реовирусный теносинновит), катарально-геморрагический энтерит (стрептококкоз), спленомегалия (стрептококкоз и болезнь Марека), венозная гиперемия, зернистая дистрофия печени и почек (при всех болезнях), милиарные некрозы в печени (стрептококкоз), серозно-фибринозный перикардит, перитонит, периспленит, овариосальпингит (стрептококкоз – подострое и хроническое течения), сероглазие, деформация зрачка (болезнь Марека), резкое утолщение седалищных нервов, нервов плечевого и пояснично-крестцового сплетения (болезнь Марека), опухолевые саловидные узлы в органах (опухолевая форма болезни Марека), гиперплазия перьевых фолликулов (болезнь Марека), серозный, серозно-гнойный тендовагинит сухожилий пальцевых сгибателей (реовирусный теносинновит), некроз головки бедренной кости, разрыв сухожилий голени (реовирусный теносинновит). При гистоисследовании в органах при болезни Марека наблюдались очаговые полиморфноклеточные пролифераты.

Нами также ранее встречались и другие формы ассоциативного течения болезней у птиц: орнитобактериоза и хламидиоза на фоне фузариотоксикоза; аспергиллеза, стафилотоксикоза и инфекционного энцефаломиелита, инфекционного бронхита, болезни Гамборо и эшерихиоза; болезни Ньюкасла, инфекционной анемии и болезни Гамборо; синдрома гидроперикардита, оспы и пастереллеза; инфекционного ларинготрахеита, реовирусного теносинновита и пастереллеза, и др.

Заключение

Болезни у цыплят-бройлеров часто протекают в ассоциации и наносят значительный экономический ущерб птицеводству. Основными причинами ассоциативного течения болезней являются несбалансированное по основным питательным веществам кормление птиц, скармливание комбикормов с высоким содержанием микотоксинов и рапсосодержащих кормов с эруковой кислотой. Патоморфология ассоциативных болезней на фоне микотоксикозов характеризуется выраженными дистрофическими и воспалительными изменениями в органах и тканях цыплят.

Литература

1. Болезни животных (с основами патологоанатомической диагностики и судебно-ветеринарной экспертизы) / В. С. Прудников [и др.] ; под ред. В. С. Прудникова. – Минск : Техноперспектива, 2010. – 507с. : цв. ил.
2. Головня, Е. Я. Ветеринарная микология – основные направления исследований (обзор литературы) / Е. Я. Головня // Актуал. вопр. вет. биологии. – 2009. – № 2. – С. 3–11.
3. Патоморфологическая диагностика малоизученных и тропических болезней животных : справ. пособие / В. С. Прудников [и др.] ; Витебская гос. акад. вет. медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2007. – 131 с.
4. Патоморфологические изменения у цыплят при ассоциированном течении рео- и цирковиральной инфекций на фоне кормового токсикоза / В. С. Прудников [и др.] // Птица и птицепродукты. – 2012. – № 2. – С. 52–54.
5. Справочник по вскрытию трупов и патоморфологической диагностике болезней животных (с основами судебно-ветеринарной экспертизы) / В. С. Прудников [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2007. – 375 с.

Поступила 01.06.2017 г.

УДК 619:576.895.132:636.2

Н. Ю. Щемелева

НОВЫЙ КОМПЛЕКСНЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АССОЦИАТИВНЫХ ИНВАЗИЙ ТЕЛЯТ

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
имени С. Н. Вышеслесского», г. Минск, Беларусь*

Введение

В течение двух последних десятилетий относительно возросло количество паразитарных болезней домашних животных, и ветеринарные специалисты стараются найти ответ на вопрос, почему все это происходит. Одно из возможных объяснений – глобальное ухудшение окружающей среды, что нарушает защитные функции организма до такой степени, что особь не в состоянии адекватно реагировать на возбудителей инвазии. В связи со своим образом

жизни паразиты гораздо лучше приспосабливаются, и ослабленный организм хозяина является для них благоприятной средой для дальнейшего размножения.

Изучение эпизоотической ситуации по паразитарным болезням крупного рогатого скота в последние годы показало, что имеет место значительное инвазирование животных нематодами желудочно-кишечного тракта, фасциолами, чаще регистрируются диктиокаулез, бабезиоз и другие пироплазмидозы [5, 6].

Особую тревогу вызывает рост инвазированности молодняка. Так, за период с 2013 по 2016 г. она возросла почти в 2,0 раза (табл. 1).

Таблица 1. Ретроспективные данные по инвазированности крупного рогатого скота Минской области

Период, год	<i>Sd</i>	<i>St</i>	<i>Eim</i>
<i>Телята в возрасте 1–2 мес.</i>			
2013	–	–	68,17 ± 10,44
2014	–	–	78,21 ± 8,74
2015	–	–	92,33 ± 8,05*
2016	–	–	88,67 ± 10,51
<i>Телята в возрасте 2–4 мес.</i>			
2013	17,25 ± 3,15	34,78 ± 5,41	62,32 ± 9,45
2014	19,37 ± 3,74	33,17 ± 3,15	77,35 ± 7,25
2015	31,58 ± 2,89	42,66 ± 4,75	82,47 ± 8,33
2016	37,21 ± 3,77*	47,52 ± 5,23*	96,54 ± 6,71**
<i>Телята в возрасте 4–6 мес.</i>			
2013	12,08 ± 1,62	24,12 ± 3,12	57,22 ± 9,33
2014	13,58 ± 2,51	28,46 ± 3,08	61,57 ± 8,52
2015	16,37 ± 2,33	33,25 ± 4,36	92,82 ± 15,43**
2016	22,14 ± 2,58*	52,52 ± 5,74**	87,17 ± 9,45**
<i>Молодняк</i>			
2013	15,22 ± 2,66	26,18 ± 0,21	43,77 ± 9,25
2014	14,75 ± 1,89	28,43 ± 1,28	40,25 ± 6,83
2015	20,15 ± 3,04	42,14 ± 2,58	45,65 ± 9,08
2016	20,41 ± 2,85	38,34 ± 2,14	52,34 ± 11,24

* $P < 0,05$.

** $P < 0,01$.

Примечание: *Sd* – стронгилоиды; *St* – стронгилята желудочно-кишечного тракта; *Eim* – эймерии.

Выявленные паразитарные болезни телят и молодняка в основном протекают в форме паразитоценозов, которые характеризуются большим родовым разнообразием их сочленов. Состав возбудителей желудочно-кишечных паразитоценозов и степень зараженности ими находятся в прямой зависимости от возраста животного. Ассоциативные паразитозы впервые были обнаружены у телят, начиная с двухмесячного возраста.

При изучении состава выявленной ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, наибольшую часть представляют эймерии – 64,0 %, стронгилята желудочно-кишечного тракта – 23,0 % и стронгилоиды – 13,0 %.

В результате жизнедеятельности паразиты создают постоянное давление на иммунную систему и угнетают поствакцинальный иммунитет молодых животных. В связи с этим лечение ассоциативных инвазий должно включать в себя применение не только традиционных антгельминтиков, но и ряда других лекарственных средств, направленных на восстановление иммунной системы, нормализации процессов пищеварения и естественной микрофлоры кишечника животного [2–4].

Также при лечении необходимо следить за недопущением образования резистентных форм паразита. Главный принцип: *давать полную терапевтическую дозу лекарств*. Резистентность возникает именно при даче так называемых профилактических доз, которые ошибочно считаются меньше терапевтических. Они не ликвидируют паразита, у него вырабатывается система защиты от антгельминтика, передающаяся последующим поколениям. Таким образом, возникают резистентные формы паразитов, с которыми трудно справиться только терапевтически. Поэтому при регулярной профилактической дегельминтизации всегда следует использовать терапевтическую дозу, рассчитанную в соответствии с массой животного [1]. В последнее время ученые различных стран стали уделять больше внимания разработке комплексных препаратов, имеющих определенные преимущества перед однокомпонентными средствами борьбы с паразитами. К комплексным препаратам привыкание паразитов развивается медленно, либо вообще не происходит, кроме этого они имеют, как правило, более широкий спектр действия, более экономичны, при их использовании количество обработок животных сокращается. Нередко субстанции комплексных препаратов усиливают действие друг друга, что повышает в целом эффективность препарата [1, 2, 4].

В течение 2016–2017 гг. нами разработана композиция комплексного препарата «Вирококцид», в состав которого вошли современный кокцидиостатик, антгельминтик, органические кислоты, токоферола ацетат.

Такая композиция позволяет освободить животных от паразитических простейших и гельминтов, снизить нагрузку на иммунную систему. За счет своего состава вирококцид положительно влияет на микрофлору пищеварительного тракта (в желудочно-кишечном тракте препарат создает слабокислую среду, которая угнетает рост патогенных грибов, бактерий – эшерихий, сальмонелл и паразитических простейших, одновременно усиливая рост полезных симбиотных микроорганизмов – лактобактерий, бифидобактерий, ацидобактерий, пропионовокислых бактерий и др.), при этом нормализуется ферментно-витаминный состав, что способствует лучшей переваримости корма, улучшается его усвояемость.

Цель исследований – изучить фармакотоксикологические свойства нового препарата и оценить его эффективность при ассоциативных инвазиях телят.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в животноводческих хозяйствах Республики Беларусь и в отделе паразитологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского».

В опытах использовали крупный рогатый скот (телят в возрасте 2–4 мес.). Всего в опытах было использовано 62 головы крупного рогатого скота.

Определение яиц нематод и ооцист эймерий в пробах фекалий от телят проводили методами Котельникова–Хренова (1974).

Изучение фармакотоксикологических свойств нового комплексного препарата осуществляли согласно «Методическим указаниям по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии» (Минск, 2007).

Статистическую обработку цифровых данных выполняли в соответствии с современными требованиями к проведению биологических исследований с использованием пакета прикладных программ «Microsoft Excel 2010» и программы Statistica 6.0.

Количественные показатели приводили в виде среднего значения ($\pm$) ошибки среднего. Сравнения между группами для количественных показателей выполняли с использованием параметрического *t*-критерия Стьюдента. Граничным уровнем статистической значимости принята $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Результаты токсикологических исследований показали, что состав препарата относится к веществам малоопасным (4-й класс) с LD_{50} более 5000 мг/кг, согласно ГОСТ 12.1.007-76. При изучении хронической токсичности установлено, что препарат не вызывает каких-либо отклонений от физиологической нормы в клиническом состоянии у мышей, получавших препарат в дозах, трехкратно превышающих терапевтическую, в течение трех дней. Препарат не обладает раздражающим и аллергизирующим действием на лабораторных животных, а также не оказывает отрицательного влияния на общее состояние организма, морфологические и биохимические показатели крови кроликов в подостром опыте.

Исследование терапевтической эффективности проводили на телятах, спонтанно инвазированных ассоциацией паразитов (стронгилоиды + стронгилята + эймерии), принадлежащих КРСУП «Индустрия» Пуховичского района Минской области.

Вирококцид применяли в дозе 100 мг/кг живой массы внутрь двукратно с интервалом 24 ч. Базовый препарат, который используют в хозяйстве, – фармацин, вводили однократно, подкожно в дозе 1 мл на 50 кг живой массы. К контрольной группе животных препараты не применяли.

Полученные результаты по эффективности нового и базового препаратов представлены в табл. 2.

**Таблица 2. Терапевтическая эффективность препаратов
при ассоциативной инвазии телят ($n = 62$)**

Препарат	Доза, мг/кг	Количество, голов	Инвазированность, %		Количество здоровых животных, гол.	Экстенсэффе- ktivность, %
			до применения препарата	после применения препарата		
Вирококцид	100,0	23	100,0	0	23*	100,0*
Фармацин	0,02	20	100,0	35,0	13	65,0
Контрольная группа	—	20	100,0	100,0	0	—

*Fisher exact, $P < 0,0066$.

Используя точный критерий Фишера для статистических расчетов, установили, что применение виорококцида приводит к полному изгнанию паразитов у животных по сравнению с базовым однокомпонентным препаратом фармацином (Fisher exact, $P < 0,0066$). Заражение телят группы контроля оставалось на прежнем высоком уровне. При этом отмечалось значительное улучшение клинического статуса животных: отсутствовала диарея, увеличилось поедание корма.

Выводы

1. Выявленные паразитарные болезни телят и молодняка в основном протекают в форме паразитоценозов, которые характеризуются большим разнообразием их сочленов. Состав возбудителей желудочно-кишечных паразитоценозов и степень зараженности ими находятся в прямой зависимости от возраста животного. Ассоциативные паразитозы впервые были обнаружены у телят, начиная с двухмесячного возраста.

2. Уровень инвазирования телят и молодняка крупного рогатого скота ассоциативными паразитозами в хозяйствах Минской области составляет 57,18 %. Наибольшую часть состава выявленной ассоциации паразитов представляют эймерии – 64,0 %, стронгилята желудочно-кишечного тракта – 23,0 % и стронгилоиды – 13,0 %.

3. При изучении острой и хронической токсичности нового комплексного препарата «Вирококцид» установлено, что он не вызывает каких-либо отклонений от физиологической нормы в клиническом состоянии у мышей и согласно ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества» относится к 4-му классу опасности (малоопасные вещества), не оказывает местного раздражающего действия на кожные покровы лабораторных животных и не обладает сенсibilизирующей (аллергенной) способностью, не вызывает интоксикации организма и каких-либо отклонений от физиологической нормы у кроликов, получавших препарат в терапевтической и трехкратно превышающей терапевтическую дозах.

4. Эффективность виорококцида в дозе 100 мг/кг живой массы при ассоциативных инвазиях (стронгилоиды + стронгилята + эймерии) телят составила 100 %.

Литература

1. Бессонов, А. С. Резистентность к паразитоцидам: система интегрированного управления развитием паразита / А. С. Бессонов // Ветеринария. – 2003. – № 2. – С. 29–32.
2. Озерецковская, Н. Н. Современные проблемы терапии гельминтозов / Н. Н. Озерецковская // Мед. паразит. и паразитар. болезни. – 1975. – № 3. – С. 271–276.
3. Оробец, В. А. Отрицательные последствия дегельминтизации сельскохозяйственных животных / В. А. Оробец // Вести ветеринарии. – 2000. – № 15. – С. 88–90.
4. Современные лекарственные средства фармакокоррекции и химиопрофилактики животных : науч.-практ. изд. / Науч.-производств. фирма «Бровафарма». – Киев, 2007. – С. 113–121.
5. Якубовский, М. В. Диагностика, терапия и профилактика паразитарных болезней животных / М. В. Якубовский, Н. Ф. Карасев. – Минск : БИТ «Хата», 2001. – 384 с.
6. Якубовский, М. В. Стронгилятозы желудочно-кишечного тракта домашних жвачных животных в Беларуси / М. В. Якубовский, Т. Я. Мяцова, Е. А. Кирпанева // Ветеринарная наука – производству : науч. тр. / Белорус. науч.-исслед. ин-т эксперимент. вет. им. С. Н. Вышелесского. – Минск, 2005. – Вып. 37. – С. 196–203.

Поступила 16.06.2017 г.

УДК 619:638.157:616-036.22

М. И. Черник¹, Д. К. Рахматулин²

АЭРОЗОЛЬНЫЙ СПОСОБ БОРЬБЫ С ВАРРОАТОЗОМ ПЧЕЛ

¹РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского»,
г. Минск, Беларусь

²РУП «Институт плодводства», пос. Самохваловичи, Минский р-н,
Минская обл., Беларусь

Введение

Варроатоз – тяжело протекающее инвазионное заболевание личинок, куколок и взрослых пчел *Apis mellifera*, вызываемое клещом *Varroa destructor* (Anderson et Truman, 2000), именованным ранее *Varroa jacobsoni* (Oudemans, 1904). Карантинная болезнь (список Б Международного эпизоотического бюро) возникла в конце 1950-х годов в связи с освоением клещом нового хозяина – медоносной пчелы *Apis mellifera* [2].

Клещ *Varroa destructor* и микроспоридии *Nozema* сегодня считаются самыми серьезными паразитами медоносной пчелы *Apis mellifera* L. Большинство исследователей и пчеловодов разных стран мира сходятся во мнении, что именно эти инвазии создают реальную угрозу существованию пчеловодства.

До сего времени обуздать паразита не удалось, инвазия не уменьшается, поскольку клещ после многолетних контактов с противоварроатозными препаратами выработал устойчивость к большинству из них.

Ветеринарными специалистами испытано и предложено для широкого применения на пасеках много средств и способов, включая химические, физи-

ческие и биологические. Нехимические методы обычно довольно трудоемки и часто не дают ожидаемого лечебного эффекта. Только химический способ борьбы, с использованием специальных лечебных препаратов, позволил реально снизить динамику гибели пчелиных семей и целых пасек.

Более 140 химических соединений были проверены на их эффективность против *Varroa destructor*. Разработано и зарегистрировано большое число химических препаратов, у которых наиболее часто действующим веществом являются флувалинат, флуметрин, бромпропилат и амитраз (Delaplane, 1997; Игнатьева, Мельник и др., 2004). Несмотря на высокую эффективность каждого нового акарицида, например, из группы перитроидов, наблюдаемую в начале его применения, адаптационные возможности варроа уже через несколько лет дают первых особей, которые не только устойчивы к акарициду, но и размножаются в его присутствии (Watkins, 1996). Чем больше поколений варроа выросло в присутствии данного акарицида, тем большая часть его популяции становится к нему устойчивой.

Устойчивые к акарицидам паразиты появляются из-за очень редких спонтанных мутаций, происходящих в генетическом материале клеща. В результате наступают такие последствия, как: повышение синтеза или освобождение антитоксинных ферментов (Watkins, 1996), замена аминокислот в антитоксинных ферментах, увеличение уровня этих ферментов, сокращение сходства молекулы, являющейся целью акарицида, уменьшение поглощения акарицида, расщепление акарицида молекулами, которые его целью не являются.

Появление устойчивых клещей на конкретной пасеке обусловлено «импортом» устойчивого типа варроа с других пасек или длительным применением акарицида, который оставляет в живых отдельных устойчивых клещей, число которых постоянно растет.

Впервые устойчивый к флювалинату клещ был отселектирован на Сицилии (Eischen, 1995), а затем кочевыми пасаками перенесен на север Италии, откуда через Альпы проник в Словению, Швейцарию, Францию, Бельгию, Австрию, Испанию и даже Финляндию.

По сообщениям итальянских исследователей, когда клоны варроа, устойчивые к тау-флювалинату, распространились в этой стране, потери во многих районах составили больше 70,0 % семей. Характерно, что концентрация флювалината, нужная для умерщвления 50,0 % особей варроа (LC50), происходящих с территорий, где лечение флювалинатов стало неэффективным, была в 25–50 раз выше той, что требовалась для уничтожения клещей в районах, где паразиты были к нему чувствительны (Colombo и др., 1993; Milani, 1995; Milani, 2000).

Развитие резистентности к одному акарициду может распространяться и на близкородственные вещества. Такое явление известно под названием перекрестной устойчивости. Например, устойчивость к флювалинату означает обычно и устойчивость к акринатрину и флуметрину (Milani, 2000). К тому же, несмотря на то что флювалинат и амитраз не являются химически

родственными, ферменты устойчивых клещей делают эти вещества неэффективными [1, 4].

Сегодня во многих странах отмечается повышение устойчивости клещей к широко используемым синтетическим контактным акарицидам. Первые случаи устойчивости варроа к применяемым акарицидам, в частности к амитразу, зарегистрированы в Сербии (Duijn et al., 1991) и США (Elzen et al., 1999, 2000); к кумафосу – в Италии (Spreafico et al., 2001) и США (Pettis, 2004); к флувалинату и флуметрину – в Италии (Milani, 1993) и США (Elzen et al., 1999, 2000).

Формирование полной устойчивости популяции варроа к пиретроидам и другим акарицидам происходит не стремительно. Обычно требуется 6–7 лет, хотя резистентность может возникнуть и через 4 года [3].

Предотвратить развитие резистентности можно путем чередования акарицидных препаратов из разных групп, путем применения препаратов, к которым устойчивость клеща до настоящего времени не выявлена, а также изменением способа применения (введения) препарата [1, 4].

Нами были испытаны новые способы обработки пчел против варроатоза.

Материалы и методы исследований

Работу проводили в лаборатории болезней пчел РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» и в лаборатории пчеловодства РУП «Институт плодоводства» в 2016 г.

Аэрозольную обработку осуществляли аэрозольным генератором VAT 1A чешского производства (рис. 1) и устройством «Varrojet (Варроджет)» (рис. 2).

Для проведения аэрозольной обработки необходимо следующее оборудование: компрессор, шланги для подачи сжатого воздуха, аэрозольный генератор, источник электричества (рис. 3).

Аэрозольную обработку генератором VAT 1A проводили следующим образом. С помощью специальных разъемов (быстросъемов) аэрозольный генератор подключали к источнику сжатого воздуха (компрессору), который соз-



Рис. 1. Аэрозольный генератор VAT 1A



Рис. 2. Устройство «Varrojet (Варроджет)»

давал давление сжатого воздуха 50 л/мин при 3,5–10,0 атм. При прохождении воздуха через аэрозольный генератор стрелка манометра устанавливалась на отметке 3,5 атм и в процессе обработки регулировалась. Производительность аэрозольного генератора при вышеописанных параметрах составила 1,74–2,0 см³ в 1 мин, экспозиция аэрозоля – 120 с (рис. 4).

Нами был разработан способ получения аэрозоля путем внесения на пластину размером 2 × 2 см, изготовленную из прессованного картона 0,1 см³, 12,5 % амитразы. При проведении исследований достоверных различий между применением препарата аналога таблеток Apivarol польского производства и разработанного нами способа не установлено.

Аэрозольную обработку устройством «Варроджет» проводили следующим образом: пластины картона с нанесенной амитразой поджигали и вкладывали в цилиндр для сжигания прибора, затем включали вентилятор. Трубку устройства вводили в нижний леток для подачи в улей аэрозоля лекарственного средства (рис. 5). Под действием вентилятора устройства аэрозоль амит-



Рис. 3. Оборудование, необходимое для проведения аэрозольной обработки



Рис. 4. Проведение аэрозольной обработки пчел в 16-рамочном улье



Рис. 5. Обработка пчелосемьи в 16-рамочном деревянном улье устройством «Варроджет»

разы попадал в улей. При проведении обработки летки не закрывали. Для учета осыпи клеща на дно улья помещали два листа самоклеящейся бумаги формата А4, клеящей поверхностью вверх. Подсчет проводили через 1, 6, 12, 24, 48, 36, 72 ч.

Результаты и их обсуждение

По принципу условных аналогов 15 августа 2016 г. (после откачки товарного меда) были сформированы четыре опытные группы по пять семей в каждой, с учетом силы семей, количества рамок с расплодом в гнезде, количества корма и др. (см. таблицу).

Характеристика использованных в опыте пчелосемей

Опытная группа	Рамки, шт.	Корм, кг	Расплод, тыс. печатных ячеек
1	$9,33 \pm 1,15$	$7,33 \pm 2,52$	$17,33 \pm 3,58$
2	$9,65 \pm 1,35$	$8,57 \pm 1,01$	$16,53 \pm 6,67$
3	$8,61 \pm 1,53$	$5,07 \pm 1,68$	$13,27 \pm 5,68$
4	$9,27 \pm 1,24$	$6,12 \pm 1,18$	$15,47 \pm 4,34$

Первая опытная группа подвергалась аэрозольной обработке амитразой генератором VAT 1A, вторая опытная группа – устройством «Варроджет». Третья опытная группа служила контролем и подвергалась обработке аэрозолем дистиллированной воды в режиме обработки первой опытной группы. Четвертая опытная группа также служила контролем и подвергалась обработке устройством «Варроджет» путем сжигания пластин размером 2×2 см изготовленного из прессованного картона без добавления амитразы.

Как видно из рис. 6: через 1 ч после обработки гибель клеща составила $10,6 \pm 2,73$ (при обработке устройством «Варроджет») и $19,8 \pm 6,50$ (при обработке генератором VAT 1A); через 6 ч – $68,40 \pm 13,87$ и $50,20 \pm 10,35$; через 12 ч –

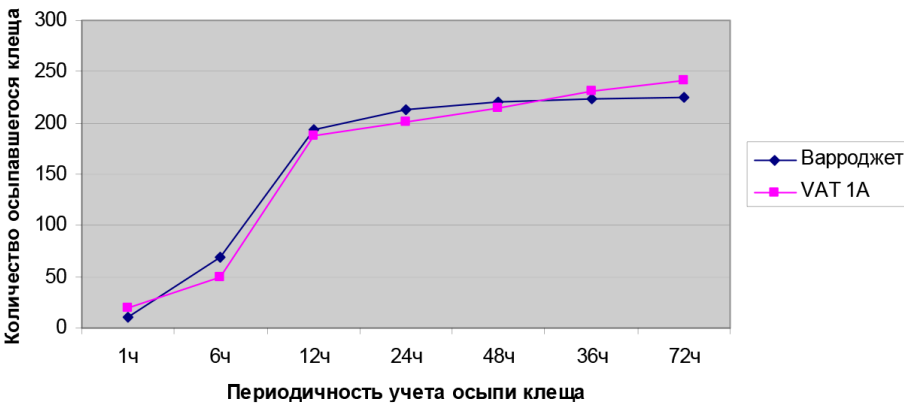


Рис. 6. Динамика гибели клеща при различных способах аэрозольной обработки

194,20 ± 15,70 и 187,0 ± 19,34; через 24 ч – 212,8 ± 13,35 и 200,0 ± 22,62; через 48 ч – 220,2 ± 13,88 и 214,0 ± 22,33; через 36 ч – 223,4 ± 14,76 и 231,0 ± 25,93; через 72 ч – 224,8 ± 15,34 и 242,0 ± 28,49 соответственно.

Максимальная гибель клеща наступала через 24 ч после обработки. Осыпь клеща наблюдалась с увеличением на протяжении 72 ч с момента обработки. Достоверных отличий между аэрозольными обработками не выявлено, однако обработка с использованием аэрозольного генератора VAT 1A требовала больших затрат времени на обработку одной семьи, дополнительного оборудования и источника электроэнергии.

Оба способа показали достаточно высокую эффективность противоварроатозной аэрозольной обработки.

В контрольных группах пчелосемей проводили учет естественной гибели клеща, которая составляла от 1 до 5 клещей в сутки.

При проведении аэрозольных обработок за опытными семьями велось наблюдение. Отрицательного воздействия аэрозолей амитразы, полученной различными аппаратными способами, не установлено. Пчелиные семьи вели себя спокойно. Реакции пчелосемей в виде выкучивания на летки, выхода пчел за вставную доску и других особенностей поведения насекомых после введения аэрозолей не наблюдалось. Гибели пчел после проведения обработок также не было отмечено.

Выводы

1. Разработан новый способ получения аэрозоля, не уступающий зарубежному аналогу, путем внесения на пластину размером 2 × 2 см, изготовленной из прессованного картона 0,1 см³, 12,5 % амитразы.

2. Установлено, что оба способа аэрозольной противоварроатозной обработки достаточно эффективны и безопасны для пчелосемей.

3. Аэрозольная обработка устройством «Варроджет» по сравнению с обработкой аэрозольным генератором VAT 1A менее трудозатратна, более проста и требует минимального обеспечения дополнительным оборудованием.

Литература и источники

1. Устойчивость клеща варроа к препаратам [Электронный ресурс] / Ю. М. Батуев [и др.] // Пчеловодство. – 2010. – № 1. – Режим доступа: http://www.beekeeping.orc.ru/Arhiv/a2010/n1010_24.htm. – Дата доступа: 02.05.2017.
2. Anderson, D. L. Varroa jacobsoni (Acari: Varroidae) is more than one species / D. L. Anderson, J. W. H. Trueman // Experimental and Applied Acarology. – 2000. – Vol. 24. – P. 165–189.
3. Biology and control of Varroa destructor / P. Rosenkranz [et al.] // Journal of Invertebrate Pathology. – 2010. – Vol. 103. – P. 96–119.
4. Lipieński, Zbigniew. Problem oporności Varroa na syntetyczne akarocydy kontaktowe = Проблема устойчивости клещей варроа к синтетическим акарицидам контактного действия [Electronic resource] / Dr Zbigniew Lipieński // Przeczelarstwo. – 2008. – № 4. – Mode of access: http://beeinbg.narod.ru/vjarov_75.htm. – Date of access: 23.05.2017.

Поступила 07.07.2017 г.

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РАЗРАБОТКИ
И ПРОИЗВОДСТВА ПРОТИВОБАКТЕРИАЛЬНЫХ,
ПРОТИВОВИРУСНЫХ И ДРУГИХ БИОПРЕПАРАТОВ**

УДК 619:615.371

Н. А. Ковалев, Д. В. Бучукури, М. М. Усеня, П. А. Красочко

**ПОЛИВАЛЕНТНЫЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ
ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЛОТОЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ,
РАЗРАБОТАННЫЕ В БЕЛАРУСИ**

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Из вирусных заболеваний плотоядных животных в Беларуси наиболее распространены бешенство, чума, парвовирусный энтерит и инфекционный гепатит. Ими болеют собаки и пушные звери – лисицы, песцы, норки, хорьки и др. Данные заболевания представляют угрозу, а временами наносят и значительный экономический ущерб собаководству и пушному звероводству. Кроме того, бешенство представляет смертельную опасность для человека.

Основным методом профилактики вышеуказанных заболеваний является вакцинация. В настоящее время против них разработан ряд моно- и поливалентных вакцин. Однако они в Беларуси не производятся, а закупаются за рубежом, что требует значительных затрат валюты. Поэтому в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» были проведены исследования по разработке и освоению производства указанных вакцин на территории Республики Беларусь.

Поскольку плотоядные животные одинаково высоко восприимчивы к бешенству, чуме, парвовирусному энтериту и инфекционному гепатиту, они нуждаются в биологической защите с использованием ассоциированных вакцин. В связи с этим наряду с разработкой моновакцин, основное внимание было уделено разработке поливалентных вакцин против этих заболеваний, применение которых позволяет облегчить техническую организацию и снизить затраты на проведение профилактических мероприятий.

В процессе научных исследований сотрудниками РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» был разработан ряд

поливалентных вакцин против вирусных инфекций плотоядных: вакцина жидкая культуральная инактивированная сорбированная против бешенства и парвовирусного энтерита собак «Парвораб», вакцина инактивированная против бешенства, чумы и парвовирусного энтерита плотоядных животных «Тривак», вакцина инактивированная против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных «Поливак» [1, 4, 5].

Основным технологическим этапом при разработке и изготовлении вакцин является наработка вирусных монокомпонентов, которая включает накопление вирусов на культуре клеток, их инактивацию и конструирование вакцины.

Накопление вирусов на культуре клеток

Вирус бешенства репродуцируют реакторным или роллерным способом. При первом способе вирус вносят в биореактор с клетками ВНК-21/13 на среде Игла с 10,0 %-ной сывороткой КРС в количестве $0,6 \pm 0,14$ ТКИД₅₀/кл и культивируют при постоянном перемешивании при температуре 37 °С и поддержании pH 7,2–7,4 в течение 3–4 сут. При втором способе в среду Игла с клетками ВНК-21/13 в количестве 0,1–1,2 млн/мл, разлитую в роллерные флаконы по 200,0 см³, вносят вирус в количестве 0,1–0,6 МЛД₅₀/кл и культивируют его при температуре 37 °С и скорости вращения флаконов 18–28 об/мин в течение 3–4 сут. Перед сливом вирусосодержащей жидкости флаконы для разрушения клеток подвергают замораживанию и оттаиванию.

Вирус парвовирусного энтерита собак репродуцируют на культуре клеток CrFK со средой Игла и 10,0 %-ной сывороткой КРС в статических условиях в 1,5-литровых матрасах или в 2-литровых роллерных флаконах при температуре 37 °С. Заражающая доза вируса составляет 0,0005 ГАЕ/кл. Урожай собирают через 3–4 сут. культивирования после предварительного замораживания и оттаивания матрасов и флаконов.

Вирус чумы плотоядных репродуцируют на культуре клеток Vero со средой Игла или Игла MEM 2,0–10,0 %-ной сывороткой КРС в статических условиях в 1,5-литровых матрасах или в 2-литровых роллерных флаконах при температуре 37 °С. Заражающая доза вируса чумы плотоядных составляет 0,6–0,14 ТКИД₅₀/кл. Урожай собирают через 3–4 сут. культивирования после предварительного замораживания и оттаивания матрасов и флаконов.

Вирус инфекционного гепатита репродуцируют на культуре клеток МДСК; эффективным способом выращивания – роллерный со средой Игла или Игла MEM с добавлением 2,0–10,0 %-ной сыворотки КРС. Заражающая доза вируса инфекционного гепатита – 0,1–0,3 ТКИД₅₀/кл. Урожай собирают через 3–4 сут. культивирования после предварительного замораживания и оттаивания матрасов и флаконов.

Вирусное сырье после проверки на бактериальную и грибковую стерильность инактивируют в течение 24 ч при температуре 37 °С теотропином в 0,15%-ной концентрации.

Вакцина жидкая культуральная инактивированная сорбированная против бешенства и парвовирусного энтерита «Парвораб» в качестве вирусодержащего материала включает смешанные в равных объемах селекционированный штамм вируса бешенства КМИЭВ-94 в титре $6,8-7,0 \lg$, выращенный в культуре клеток ВНК-21, и вирус парвовирусного энтерита собак ПВЭС КМИЭВ-14в в титре $7,0-8,0 \log_2$, выращенный в культуре клеток CrFK; в качестве инактиватора вирусов использован теотропин в 0,15 %-ной концентрации; в качестве адьюванта – гидроксал в концентрации 10,0 об.%. Хранение при температуре $+4...+8^\circ\text{C}$ обеспечивает годность вакцины в течение 18 мес. со дня изготовления. На основании проведенных исследований разработаны технические нормативные правовые акты (ТНПА) (технические условия (ТУ), опытно-промышленный регламент, инструкция по применению) на вакцину жидкую культуральную инактивированную сорбированную против бешенства и парвовирусного энтерита собак «Парвораб».

Разработанная вакцина «Парвораб» прошла регистрационные испытания в ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр», одобрена Ветбиофармсоветом, внесена в реестр ветеринарных препаратов Республики Беларусь (госрегистрация № 3443-10-11 БВВИЖ от 08.04.2011 г.) и рекомендована к производству [1].

Вакцина инактивированная против бешенства, чумы и парвовирусного энтерита плотоядных животных «Тривак» сконструирована на основе селекционированных штаммов вируса бешенства КМИЭВ-94, вируса чумы плотоядных КМИЭВ-82 и вируса парвовирусного энтерита плотоядных КМИЭВ-14в.

Вакцина содержит в равных объемах инактивированные теотропином в 0,15%-ной концентрации вирус бешенства с титром $6,5-7,0 \lg \text{MLD}_{50}/1,0 \text{ см}^3$, вирус чумы плотоядных с титром $4,0-4,5 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, вирус парвовирусного энтерита плотоядных с титром $8,0-10,0 \log_2$ и в качестве адьюванта гидроксал в концентрации 10,0 об.%. Вакцина представляет собой гомогенную суспензию светло-розового цвета с рыхлым осадком, который легко разбивается при встряхивании в однородную взвесь. Она является стерильной в бактериальном и грибковом отношении, безвредной и при внутримышечном введении кроликам и собакам в дозе $2,0 \text{ см}^3$ двукратно с интервалом 21 день индуцирует у них образование антител через 14 дней после иммунизации к вирусу бешенства в титрах $6,0 \pm 1,0-7,0 \pm 1,0 \log_2$, к парвовирусу – $7,0 \pm 1,0-8,0 \pm 1,0 \log_2$ и к вирусу чумы плотоядных – $5,0 \pm 1,0-6,0 \pm 1,0 \log_2$. Примерно такие же титры антител были при введении животным коммерческой вакцины Мультикан-8, что свидетельствует о высокой иммуногенности сконструированной вакцины и перспективности внедрения ее в практику. Хранение при температуре $+4...+8^\circ\text{C}$ обеспечивает годность вакцины в течение 18 мес. со дня изготовления.

На основании проведенных исследований разработаны ТНПА (ТУ, технологический регламент, инструкция по применению). Вакцина прошла регистрационные испытания в ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр», одобрена Ветбиофармсоветом, внесена в реестр ветеринарных препара-

ратов Республики Беларусь (госрегистрация 4733-10-14 БВВИЖ от 03.02.2014 г.) и рекомендована к производству [5].

Вакцина инактивированная против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных «Поливак» сконструирована на основе селекционированных штаммов вируса бешенства КМИЭВ-94, вируса чумы плотоядных КМИЭВ-82, вируса парвовирусного энтерита плотоядных КМИЭВ-14в и инфекционного гепатита плотоядных КМИЭВ-83.

Вакцина содержит в равных объемах вирус бешенства с титром $6,5 \lg \text{MLD}_{50}/\text{см}^3$, вирус чумы плотоядных с титром $4,5 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, вирус парвовирусного энтерита плотоядных с титром $8,0 \log_2$, вирус инфекционного гепатита с титром $5,0 \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, инактивированные тетрапином в 0,15%-ной концентрации, и в качестве адьюванта использован гидроксаль в концентрации 10,0 об. %.

Вакцина представляет собой гомогенную суспензию светло-розового цвета с рыхлым осадком, который легко разбивается при встряхивании в однородную взвесь. Она является стерильной в бактериальном и грибковом отношении, безвредной и при внутримышечном введении кроликам и собакам в дозе $2,0 \text{ см}^3$ двукратно с интервалом 21 день индуцирует у них образование антител через 14 дней после иммунизации к вирусу бешенства в титрах $6,0 \pm 1,0$ – $7,0 \pm 1,0 \log_2$, к парвовирусу – $7,0 \pm 1,0$ – $8,0 \pm 1,0 \log_2$, к вирусу чумы плотоядных – $5,0 \pm 1,0$ – $6,0 \pm 1,0 \log_2$ к вирусу инфекционного гепатита – $6,0$ – $7,0 \pm 1,0 \log_2$. Примерно такие же титры антител были при введении животным коммерческой вакцины Мультикан-8, что свидетельствует о высокой иммуногенности сконструированной вакцины и перспективности внедрения ее в практику [2, 3].

На основании проведенных исследований разработаны ТНПА (инструкция по применению, ТУ, промышленный регламент по изготовлению вакцины). Вакцина прошла регистрационные испытания в ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр», одобрена Ветбиофармсоветом и рекомендована к производству [2].

Заключение

Технология производства разработанных вакцин освоена в экспериментально-производственном отделе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского», а их апробация в условиях производства показала высокую профилактическую эффективность и по показателям иммуногенности и эффективности не уступает импортным аналогам.

Литература

1. Вакцина инактивированная для профилактики бешенства и парвовирусного энтерита : пат. 18504 Респ. Беларусь / Н. А. Ковалев, А. А. Гусев, Д. В. Бучукури, М. М. Усеня, П. А. Красочко ; дата публ.: 07.05.2014.
2. Вакцина против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных. Часть 1 : Репродукция и инаktivация вакцинных вирусов /

Н. А. Ковалев [и др.] // Основные направления развития ветеринарной науки : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского», Минск, 24–25 окт. 2013 г. / Ин-т эксперимент. вет. им. С. Н. Вышелесского ; под. ред. А. А. Гусева. – Минск, 2013. – С. 199–207.

3. Вакцина против бешенства, чумы, парвовирусного энтерита и инфекционного гепатита плотоядных животных. Часть 2 : Конструирование вакцины и изучение ее иммуногенности / Н. А. Ковалев [и др.] // Основные направления развития ветеринарной науки : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 90-летию РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского», Минск, 24–25 окт. 2013 г. / Ин-т эксперимент. вет. им. С. Н. Вышелесского ; под. ред. А. А. Гусева. – Минск, 2013. – С. 208–215.

4. Вакцина «Тривак» против бешенства, парвовирусного энтерита и чумы плотоядных животных, инактивированная : Технологический нормативный правовой акт ТУ ВУ 600049853.217-2013, № госрегистрации 7433-10-14БВВИЖ от 03.02.2014 г. / Н. А. Ковалев, А. А. Гусев, Д. В. Бучукири, М. М. Усенья, П. А. Красочко. – Минск, 2014. – 15 с.

5. Разработка вакцины жидкой культуральной инактивированной сорбированной против бешенства и парвовирусного энтерита собак «Парвораб» / Н. А. Ковалев [и др.] // Эпизоотология. Иммунобиология. Фармакология. Санитария. – 2011. – № 1. – С. 19–26.

Поступила 11.07.2017 г.

УДК 619:615.37.102

Т. А. Гирш¹, Е. А. Шубина², Н. М. Пухова³

АНАЛИЗ РИСКОВ В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ПРОЦЕССАХ ИЗГОТОВЛЕНИЯ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ВАКЦИН ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

*¹АО «Всероссийский научно-исследовательский институт сертификации»,
г. Москва, Россия*

²ООО «Ветбиохим», г. Москва, Россия

*³ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический
институт биологической промышленности», г. Щелково, Россия*

Введение

Производство и применение противовирусных вакцин для животных объективно связано с рисками, среди которых наиболее важными являются риски качества и безопасности продукции [1]. Определение и уменьшение рисков позволяет сократить общие расходы, улучшить эффективность производства, повысить общую безопасность и качество конечной продукции, поэтому их анализ должен стать главным объектом внимания в процессе всех аспектов производства, включая планирование производства, собственно производство, пост-производство и поддержку производства. Анализ рисков широко применяется за рубежом [2] и в ряде случаев даже стал единственным требованием регуляторных органов [3].

Цель работы – установить и применить релевантность различных методик анализа рисков в отношении производства ветеринарных противовирусных

вакцин, для которого требуется наличие системы GMP (условие регуляторного органа в лице Россельхознадзора, выдающего лицензию при запуске производства) и системы менеджмента качества (условие получения разрешения на продажу препаратов в ряде стран ближнего и дальнего зарубежья).

Материалы и методы исследований

Объектом исследования являлся технологический процесс производства культуральных противоящурных и антирабических вакцин в условиях ФКП «Щелковский биокombинат» и ОАО «Покровский биокombинат». В процессе исследований были использованы методики анализа рисков: PНА (Preliminary Hazard Analysis – предварительный анализ опасностей), FMEA (Failure Mode Effects Analysis – анализ характера и последствий отказов) и HACCP (Analysis and Critical Control Points – анализ опасностей и критические контрольные точки).

Результаты и их обсуждение

Анализ рисков методом РНА основан на оценке сочетания вероятности снижения качественных показателей вакцины при возможном нарушении какого-либо из этапов технологического процесса и потенциальном уровне ущерба для животных. В зависимости от ранга риска, с целью снижения его уровня, определяются необходимые корректирующие действия (табл. 1).

Таблица 1. Определение методом РНА необходимых действий для снижения уровня риска в технологическом процессе производства противовирусных вакцин

Вероятность снижения качественных показателей вакцины		Уровень ущерба				
		несущественный	низкий	средний	высокий	катастрофа
		1	2	3	4	5
Высокая вероятность	5	5	10	15	20	25
Вероятно	4	4	8	12	16	20
Возможно	3	3	6	9	12	15
Маловероятно	2	2	4	6	8	10
Крайне маловероятно	1	1	2	3	4	5

Уровень риска	Необходимые действия
Критический	Корректировка технологии
Высокий	Разработка мероприятий
Средний	Периодический мониторинг риска
Низкий	Не требуются

В результате применения РНА при анализе рисков в технологическом процессе производства противовирусных вакцин был выявлен ряд недостатков:

- при определении вероятности наступления риска снижения качественных показателей вакцины в результате нарушений на стадиях производственного

процесса, а также определении уровня ущерба, специалисты предприятия в большинстве случаев основываются на субъективной оценке и не опираются на научный подход;

– при определении опасных факторов, влияющих на возникновение риска, возникает потребность в использовании дополнительных инструментов качества, таких как диаграмма Исикавы, что может вызвать определенные трудности у персонала и повлечь за собой увеличение непроизводственных трудозатрат.

К положительным сторонам методики РНА можно отнести ее пригодность для первичного перспективного анализа рисков при оценке возможности выпуска новой продукции, когда еще недостаточно данных для применения более точных методик.

Анализ рисков методом FMEA основан на идентификации видов потенциальных отказов, их причин и последствий, а также влияния отказов на функционирование системы в целом или ее компонентов и процессов [4]. Термин «система» использован для описания аппаратных средств, программного обеспечения (с их взаимодействием) или процесса.

В качестве объекта применения FMEA для анализа рисков в технологическом процессе производства вакцин была взята стадия технологического процесса ТП5 «Составление серии вакцины».

Общий риск от возможного отклонения или его последствия выражали с помощью величины RPN (Risk Priority Number – приоритетное число риска), которую получали путем умножения определенных ранее баллов значений факторов (от 1 до 10), отражающих значимость отклонения S , вероятность появления отклонения O , вероятность обнаружения отклонения D :

$$RPN = SOD.$$

При этом вероятность обнаружения события D ранжируется в обратном порядке по отношению к вероятности возникновения события O или его значимости S , т. е. чем ниже вероятность обнаружения, тем выше значение D . Согласно действующей нормативной документации, за допустимое значение приемлемости риска принимали $RPN \leq 125$. Полученные результаты анализа представлены в табл. 2.

Применение методики FMEA для оценки рисков в технологическом процессе выявило существенные недостатки: субъективность в оценке вероятности появления отклонения; причины возникновения отклонения определяли, исходя из всех возможных в принципе, а не на основании научного подхода.

Анализ рисков методом HACCP для оценки производства проводили в два этапа:

– определяли значимые показатели качества вакцин, нарушение которых может привести к серьезным последствиям для здоровья животного;

– делали анализ рисков в ходе технологического процесса для выявления критических операций, оказывающих преимущественное влияние на выполнение установленных требований.

**Таблица 2. Анализ рисков методом FMEA применительно
к стадии ТП5 «Составление серии вакцины»**

Отклонение	Вероятность		Значи- мость откло- нения	RPN (≤ 125)	Оценка риска	Причина	Дополнительные мероприятия
	возни- кновения	обнару- жения					
Недоста- точная сорбция вируса на гель ГОА	3	5	10	150	Непри- емлем	Нарушение времени и скорости перемешивания. Изменение физико- химических свойств геля	1. Мониторинг режимов работы мешалки. В случае их нарушения – действия в соответствии с СОП. 2. Дополнительный кон- троль параметров ГОА перед загрузкой в реактор для сорбирования
Нарушение стериль- ности вакцины	5	5	10	250	Непри- емлем	Несте- рильность: – компонентов вакцины; – оборудования, трубопроводов, тары	1. Валидация процесса изготовления моновакцин. 2. Контроль стерильности пеногасителя, сапонины. 3. Валидация методов очистки оборудования, трубопроводов, тары
Неодно- родность суспензии	1	10	10	100	При- емлем	–	Не требуются

Значимость показателей определяли в зависимости от вероятности нарушения соответствующей нормы в процессе производства и от тяжести возможных последствий. За норму принимали показатели качества вакцины, указанные в нормативной документации на продукцию (фармстатья, СТО предприятия, технические условия и технологический регламент на производство). Вероятность нарушения нормы (реализацию опасного фактора) при серийном производстве вакцины оценивали в баллах от 1 до 4 (табл. 3) с помощью алгоритма [5], тяжесть последствий от несоответствия норме – по ГОСТ Р 51705.1-2001 [6].

Таблица 3. Критерии оценки тяжести последствий от несоответствия норме

Балл тяжести последствий	Критерий
1 – легкая	<i>Дефект затрудняет применение вакцины:</i> состояние транспортной тары, отсутствие инструкции по применению или контрольного листа в транспортной таре
2 – средняя	<i>Вакцина может вызвать нежелательные эффекты при применении:</i> изменение внешнего вида, в том числе наличие неоднородных включений, изменение цвета, структуры, загрязнение и дефекты первичной упаковки, несоответствие объема, веса
3 – тяжелая	<i>Вакцина бесполезна/вредна для здоровья:</i> токсичность, побочные реакции на месте введения, снижение эффективности
4 – критическая	<i>Препарат опасен для жизни:</i> показатели качества, нарушение которых влечет за собой заболевание или гибель животного

Полученные результаты были использованы для сравнительного анализа использованных методик по критериям оценки релевантности (табл. 4). В зависимости от соответствия методикам присваивались баллы от 0 до 3. Выяснилось, что метод НАССР лучше других применим для объектов анализа рисков, которые представляют собой технологический процесс производства, состоящий из совокупности последовательно выполняемых различных технологических операций.

Таблица 4. Сравнительная оценка использования методик анализа рисков при промышленном производстве противовирусных вакцин

Методика	НАССР	FMEA	PNA
Основанность на научном подходе	3	2	2
Сложность применения на практике при оценке рисков значимых технологических этапов	3	1	1
Объективность выбора опасных факторов	3	1	1
Возможность обосновать выбор объектов для проведения валидации	3	1	0
Возможность точно определить критические контрольные точки технологического процесса	3	0	0
Возможность обосновать необходимость разработки мероприятий по управлению риском	3	2	2

П р и м е ч а н и е. Методика: 0 – не применима; 1 – применима с условием дополнительного обучения персонала организации; 2 – применима, но требует дополнительных трудовых затрат персонала; 3 – применима полностью.

Заключение

В результате применения основных методик анализа рисков в современной технологии изготовления культуральных противовирусных вакцин для животных была разработана методология релевантного анализа рисков при промышленном производстве. При проведении процессов производства, связанных с требованиями безопасности продукции, изготовитель должен разработать, внедрить и поддерживать процедуры, основанные на принципах НАССР. При правильном использовании предложенная методика может служить как эффективный инструмент, позволяющий выявить источники рисков и наиболее критические факторы, оценить и предотвратить возможные проблемы, сэкономить ресурсы и достичь более высокого качества.

Литература и источники

1. Самуйленко, А. Я. Нормативные и информационно-справочные документы по вопросам обеспечения безопасности и качества лекарственных средств для животных / А. Я. Самуйленко [и др.] // Изв. Самарского науч. центра Рос. акад. наук. – 2011. – Т. 13, № 5 (3). – С. 181–184.
2. Мейес, Т. Эффективное внедрение АССР. Учимся на опыте других / Т. Мейес, С. Мортимор ; пер. с англ. – СПб. : Профессия, 2005. – 288 с.

3. Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств : ТР ТС 029/2012.
4. Менеджмент риска. Принципы и руководство : ГОСТ Р ИСО 31000-2010.
5. Гирш, Т. А. Методика анализа рисков при производстве лекарственных средств / Т. А. Гирш // РИА Стандарты и качество. Методы оценки соответствия. – 2013. – № 5. – С. 22–24.
6. Критерии оценки тяжести последствий : ГОСТ Р 51705.1-2001.

Поступила 10.07.2017 г.

УДК 636.52/58.083:636.085.16

**А. И. Албулов¹, М. А. Фролова¹, П. П. Красочко²,
И. А. Красочко³, А. В. Гринь¹, Ж. Ю. Мурадян¹**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУКЦИНАТА ХИТОЗАНА
В КАЧЕСТВЕ ЗАЩИТНОЙ СРЕДЫ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ
СУХОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ
ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», пос. Биокомбината, Щелковский р-н, Московская обл., Россия

²УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь

³РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышеселеского», г. Минск, Беларусь

Введение

В настоящее время для повышения сроков хранения биопрепаратов используется ряд приемов: хранение в жидком азоте (вакцина против болезни Марека), высушивание на носителях (пылевидная вакцина против классической чумы свиней), лиофильное высушивание (живые вакцины) [1–5].

В качестве защитных сред для лиофильного высушивания биопрепаратов используют среды на основе желатина (ВГНКИ № 3), среды на основе лактальбумина и желатина, сухого обезжиренного молока. Однако лиофильно высушенных инактивированных вакцин для профилактики инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота на рынке биопрепаратов нет.

Новым перспективным направлением при изготовлении сухих вакцин является использование хитозана. Его отличительной особенностью является высокая защитная и сорбционная активность, иммуностимулирующие свойства.

Цель исследований – изучить возможность применения хитозана сукцината в качестве защитной среды при изготовлении вакцины сухой инактивированной против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований

Работа выполнена в условиях Научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины» и в отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского». В качестве антигена использовали инаktivированный теотропином вирус инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (штамм «КМИЭВ-V123»).

Для решения поставленной задачи исследовали эффективность нескольких составов защитных сред:

- защитная среда № 1 – желатин (2,0 %), сахара (7,5 %), агар (0,2 %), антибиотики (Среда ВГНКИ № 3);
- защитная среда № 2 – желатин (2,0 %), сахара (7,5 %), лактоальбумина гидролизат (10,0 %), антибиотики;
- защитная среда № 3 – 0,5 %-ный раствор хитозана сукцината;
- защитная среда № 4 – сухое обезжиренное молоко.

Изучение антигенной активности полученного препарата до и после сушки проводили в опыте на лабораторных животных (табл. 1). Для этого было взято 10 групп мышей по 5 животных в каждой. Кровь от мышей брали через 21 день после второго введения вакцины. Титр антител изучали в Реакции непрямой гемагглютинации (РНГА).

Таблица 1. Изучение антигенной активности полученного препарата до и после сушки

Опытная группа	Препарат*	Защитная среда	
		до высушивания	после высушивания
№ 1	Инаktivированный вирус	+	–
№ 2	ИРТ + защитная среда № 1	–	+
№ 3	Инаktivированный вирус	+	–
№ 4	ИРТ + защитная среда № 2	–	+
№ 5	Инаktivированный вирус	+	–
№ 6	ИРТ + защитная среда № 3	–	+
№ 7	Инаktivированный вирус	+	–
№ 8	ИРТ + защитная среда № 4	–	+
№ 9	Инаktivированный вирус ИРТ без защитных сред	–	–
№ 10	Контроль	–	–

*Вводили подкожно в дозе 0,3 мл двукратно с интервалом в 14 дней.

Результаты и их обсуждение

В процессе исследований было лиофильно высушено по 20 флаконов инаktivированного теотропином вируса инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (штамм «КМИЭВ-V123») с каждой из испытываемых защитных сред. Для оценки эффективности сушки была проверена растворимость вакцины и антигенная активность полученного препарата до и после сушки.

После сушки биопрепарат имел хорошую растворимость – в среднем 4,0–5,0 мин (защитная среда № 1 – $4,2 \pm 0,23$ мин, защитная среда № 2 – $5,0 \pm 0,26$ мин; защитная среда № 3 – $4,0 \pm 0,13$ мин; защитная среда № 4 – $4,8 \pm 0,23$ мин).

На следующем этапе наших исследований изучалась антигенная активность опытных образцов препаратов сухой инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота до и после сушки (табл. 2). Сублимационная сушка снижала антигенную активность препарата в среднем на $0,2 \log_2$, но при этом антигенная активность вируса ИРТ в сухой вакцине с изучаемыми защитными средами была выше активности инактивированного вируса ИРТ без защитных сред. Особенно это отмечается в отношении защитной среды № 3 – 0,5 %-го раствора хитозана.

Таблица 2. Результаты изучения антигенной активности вируса ИРТ с различными защитными средами до и после лиофильной сушки

Образец	Период наблюдения	Титр антител, $\log_2$	
		до иммунизации	после иммунизации
Защитная среда № 1	До сушки	$0,4 \pm 0,14$	$4,0 \pm 0,32^*$
	После сушки	$0,2 \pm 0,11$	$3,8 \pm 0,13^*$
Защитная среда № 2	До сушки	$0,6 \pm 0,26$	$3,6 \pm 0,18^*$
	После сушки	$0,4 \pm 0,22$	$3,4 \pm 0,19^*$
Защитная среда № 3	До сушки	$0,2 \pm 0,18$	$4,2 \pm 0,33^*$
	После сушки	$0,4 \pm 0,14$	$4,0 \pm 0,44^*$
Защитная среда № 4	До сушки	$0,4 \pm 0,12$	$3,5 \pm 0,14^{**}$
	После сушки	$0,4 \pm 0,16$	$3,2 \pm 0,21^{**}$
Вирус без защитной среды	–	$0,6 \pm 0,26$	$3,0 \pm 0,45^{**}$
Контрольная группа	–	$0,6 \pm 0,22$	$1,40 \pm 0,24$

* $P \leq 0,001$.

** $P \leq 0,01$.

При внутрикожном введении профилактическая эффективность вакцины составила от 92,3 до 93,5%. На вакцину против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота сорбированную инактивированную сухую с использованием в качестве защитной среды сукцината хитозана подана заявка № 2016132302/10(050081) от 05.08.2016 г.

Заключение

Проведенные исследования показали, что использование 0,5 %-го раствора сукцината хитозана в качестве защитной среды высушивания при изготовлении сухой инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота обеспечивает высокую сохранность иммуногенной активности биопрепарата. Сукцинат хитозана обладает хорошей растворимостью в воде, что позволяет использовать физиологический раствор для восстановления инъекционной формы вакцины, отказавшись от дорогостоящих растворителей.

Литература

1. Воробьева, А. А. Новые принципы и методы создания иммунобиологических препаратов / А. А. Воробьева, Н. В. Медуницын // Медицина. – 1999. – № 10. – С. 16–17.
2. К вопросу о стандартизации разработки технологии сублимационного высушивания биопрепаратов / А. Я. Самуйленко [и др.] // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Владимир, 2003. – С. 379–383.
3. Нежута, А. А. Теоретические и практические основы технологии сублимационного высушивания биопрепаратов / А. А. Нежута, Э. Ф. Токарик, А. Я. Самуйленко. – Курск : Изд-во Курской гос. с.-х. акад., 2002. – 240 с.
4. Перспективы использования хитозана в производстве вакцин / А. И. Албулов [и др.] // Роль ветеринарной науки и практики в эффективном развитии животноводства : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Алматы, 2012. – С. 62–67.
5. Senel, S. Potential application of chitosan in veterinary medicine / S. Senel, S. J. McClure // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2004. – Vol. 56. – № 10. – P. 1467–1480.

Поступила 26.06.2017 г.

УДК 619:616-036.22:578

Н. М. Пухова, А. Я. Самуйленко

ИСТОРИЯ РАЗРАБОТКИ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ПРОИЗВОДСТВА АНТИРАБИЧЕСКИХ ВАКЦИН ИЗ ВИРУСА БЕШЕНСТВА, ШТАММ «ЩЕЛКОВО-51»

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности», г. Щелково, Московская обл., Россия*

В комплексе мероприятий по предупреждению бешенства и снижению социально-экономического давления инфекции на человечество ведущую роль отводят антирабическим вакцинам для животных. Первая вакцина (Луи Пастер, 1885 г.) представляла собой взвесь тканей мозга кроликов и содержала живой вирус. Естественно при всей своей значимости она имела большие недостатки.

Специалисты считают, что антирабические вакцины должны быть в первую очередь безопасны и высокоэффективны. Они должны содержать в своем составе минимальное количество балластных белков, индуцировать в короткий срок напряженный и длительный иммунитет при малых дозировках, быть простыми в изготовлении и стабильными при длительном хранении, а также пригодными к применению в составе ассоциированных вакцин. Достижения современной техники и вирусологии делают получение таких вакцин вполне реальным.

В нашей стране до 1980-х годов в основном применяли тканево-мозговые вакцины из фиксированного вируса бешенства, штамм «Овечий», изготовлен-

ные нетехнологичным рутинным способом. Препараты выпускали с остаточной инфекционностью.

Во ВНИТИБП разработка нового типа антирабических вакцин с использованием культур клеток и инаktivированного вируса бешенства началась под руководством П. П. Кузнецова и В. С. Иванова в 1972 г. на основании решения ГКНТ СССР и не прерывается до настоящего времени.

В культуральной вирусосодержащей жидкости присутствует в десятки раз меньшее количество балластных белков, ее можно подвергать очистке и концентрированию, получать вакцину с высоким индексом иммуногенности.

Сотрудниками ВНИТИБП была проведена большая работа по адаптации фиксированного вируса бешенства штамма «Овечий» к культуре клеток и изучению биологических свойств. Селекционированный на 51-м пассаже вирус бешенства получил официальное наименование штамм «Щелково-51» и был защищен патентом РСФСР № 890591 от 12.06.1980 г.

Для репродукции вируса бешенства было изучено более десятка клеточных культур и получены собственные штаммы перевиваемых линий клеток. В итоге вирус был адаптирован к перевиваемой линии клеток почки сирийского хомяка – ВНК-21, которые впервые в мировой практике были применены для промышленного производства отеческих антирабических вакцин, о чем было доложено на 21-м Всемирном ветеринарном конгрессе в 1979 г. В институте был создан промышленный трехступенчатый криобанк клеток ВНК-21, который не утратил своего ростового потенциала и поддерживается до настоящего времени. Позднее эксперты Всемирной организации здравоохранения (8-й доклад, 1994 г.) признали факт применения этой линии клеток и для изготовления антирабических вакцин для людей.

Были проведены исследования по разработке надежного инаktivанта вируса бешенства (фенол, УФ-свет, β -пропиолактон и др.). В результате наиболее эффективным был признан β -пропиолактон.

Впервые в стране были разработаны и изготовлены роллерные аппараты промышленного типа (Свидетельство на промышленный образец № 12088 от 13.05.1980 г.), которые позволили создать промышленную технологию изготовления культуральных инаktivированных антирабических вакцин для сельскохозяйственных животных и домашних плотоядных.

В начале 1980-х годов в ветеринарной практике культуральная инаktivированная вакцина ВНИТИБП стала вытеснять живую мозговую вакцину и по приказу Главного ветеринарного управления Министерства сельского хозяйства СССР № 75 в ноябре 1984 г. началось ее внедрение в производство. До 1991 г. во ВНИТИБП и на Грузинском биокOMBинате было изготовлено 3 млн доз вакцины. С 1992 г. началось ее производство на ФКП «Щелковский биокOMBинат». Вакцину выпускали в сухом виде с разбавителем (РКАВ) и в форме жидкого препарата с ГОА. В 1995 г. производство вакцины началось и во ВНИИЗЖ

по патенту ВНИТИБП. К этому времени объем производства вакцины на ФКП «Щелковский биокombинат» достиг 10 млн доз в год. Этот объем полностью обеспечивал потребность страны.

Со времени полевых испытаний, периода внедрения и массового применения вакцины до настоящего времени не было зарегистрировано ни одного случая осложнения после вакцинации или заболевания привитых животных бешенством.

По заданию ГКНТ СССР на разработку отечественного технологического оборудования для культивирования клеток, вирусов и микроорганизмов (биореакторы различных емкостей, приборы контроля, датчики и др.) в институте создавалась гибкая технологическая линия, с использованием которой были разработаны новые высокоэффективные промышленные технологии изготовления противовирусных препаратов, в том числе антирабических вакцин, реакторным способом [1].

Культивирование клеток ВНК-21 и вируса бешенства в суспензии и на микроносителях (в том числе ВИ-3, патент СССР № 1565026 от 19.04.1988 г.) в биореакторах объемом 100 л с автоматизированной системой управления позволило увеличить производительность процесса более чем в 2,0 раза и при этом получить стандартную вирусную суспензию с активностью, не уступающей международным стандартам. Реакторным способом была разработана адъювант-вакцина «Рабавак» для крупного и мелкого рогатого скота с иммуногенной активностью, превышающей международный стандарт.

До 2000 г. вакцины выпускали в основном в больших дозировках по 20–50 доз для животноводческих хозяйств. Вакцина «Рабавак», содержащая в флаконе 2–3 дозы, предназначалась в том числе и для небольших фермерских хозяйств. На вакцину была утверждена нормативно-технологическая документация, ее производство было освоено на ФКП «Щелковский биокombинат» с объемом до 1 млн доз [2].

С 2006 г. культивирование клеток ВНК-21/13 и вируса бешенства, штамм «Щелково-51» осуществляется в суспензии в биореакторах значительно большего объема [3].

В 2007 г. была поставлена задача: разработать отечественную более стабильную и высокоиммуногенную антирабическую вакцину, конкурентоспособную относительно лучшей импортной Rabisin. В результате в 2008 г. была запатентована принципиально новая высокостабильная, низкодозная, универсальная жидкая антирабическая этанол-вакцина «УНИРЭВ» с иммуногенной активностью выше 2 МЕ/мл и сроком хранения более двух лет (патент Российской Федерации № 2366457 от 27.02.2008 г.). Были изготовлены и успешно испытаны опытные серии вакцины с иммуногенной активностью 2,8–3,1 МЕ/см³ [4].

С 2010 г. проводятся исследования по разработке новой высокоиммуногенной сухой ГОА-антирабической вакцины. Впервые было показано, что гидро-

окись алюминия в жидких вакцинах, выполняющая одновременно функции сорбента и адьюванта, при высушивании готового препарата проявляет свойства криопротектора (потери активности вируса при сушке снижаются почти в 5,0 раз) [5].

С целью стандартизации производства отечественных антирабических препаратов, объективной оценки качества вакцинации и иммунного статуса животных во ВНИТИБП совместно с ВГНКИ были созданы и аттестованы национальные отраслевые стандарты: референс-сыворотка и референс-вакцина [6].

В настоящее время ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности» совместно с ФКП «Щелковский биокомбинат» ведутся исследования по дальнейшему совершенствованию производства антирабических вакцин с использованием передовых технологий (патенты Российской Федерации № 2522866 от 06.03.2013 г.; № 2538617 от 21.11.2014 г.; RU 2563542 от 20.09.2015 г. [7]) и методов контроля с обязательным учетом международных требований GMP, позволяющих выпускать безопасную продукцию со стабильными показателями и конкурентоспособную на мировом рынке.

Литература

1. Самуйленко, А. Я. Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов / А. Я. Самуйленко, Е. А. Рубан. – М., 2000. – Т. 1, 2. – 781 с.
2. Основные направления разработки и внедрения антирабических вакцин из шт. Щелково-51 / Н. М. Пухова [и др.] // Ветеринарна медицина : міжвідом. темат. наук. зб. – 2011. – Вып. 95. – С. 175–177.
3. Совершенствование цельновирионных вакцин против бешенства животных / Н. М. Пухова [и др.] // Вет. врач. – Казань, 2012. – № 5. – С. 5–7.
4. Универсальная антирабическая вакцина для животных и критерии ее эффективности / Н. М. Пухова [и др.] // Изв. Самарского науч. центра Рос. акад. наук. – 2011. – Т. 13, № 5 (3). – С. 175–177.
5. Пухова, Н. М. Антителоиндуцирующая активность в организме животных, иммунизированных сухой антирабической ГОА-вакциной / Н. М. Пухова, Н. К. Еремец // Веткорм. – 2012. – № 6. – С. 24–25.
6. Пухова, Н. М. Контроль качества антирабических вакцин / Н. М. Пухова, Е. А. Шубина, А. Л. Елаков // Методы оценки соответствия. – 2013. – № 12. – С. 8–11.
7. Нормативные и информационно-справочные документы по вопросам обеспечения безопасности и качества лекарственных средств для животных / А. Я. Самуйленко [и др.] // Изв. Самарского науч. центра Рос. акад. наук. – 2011. – Т. 13, № 5 (3). – С. 181–184.

Поступила 10.07.2017 г.

О. А. Богомолова

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СОРБИРОВАННОЙ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ НЕКРОБАКТЕРИОЗА ЖИВОТНЫХ

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности», г. Щелково, Московская обл., Россия*

Введение

Актуальной проблемой животноводства являются болезни дистального отдела конечностей сельскохозяйственных животных, приводящие к выбраковке животных, в том числе высокопродуктивных особей, нанося тем самым значительный экономический ущерб. При этом заболеваемость копыт у животных в хозяйствах колеблется в пределах 30,0–75,0 % от общего поголовья, а отход и вынужденный убой составляет 10,0–14,0 % [1, 5].

Некробактериоз – инфекционная болезнь, характеризующаяся появлением у крупного рогатого скота гнойно-некротических поражений нижних частей конечностей (межкопытной щели, рога копыт, кожи, суставов и связок), а также кожи, слизистых оболочек и внутренних органов.

Первичный занос возбудителя инфекции в хозяйство происходит исключительно вместе с больными или инфицированными животными, затем инфекция на ферме приобретает стационарный характер с тенденцией к усилению тяжести патологического процесса вследствие многократного пассажа возбудителя через естественно восприимчивых животных. Предрасполагающими факторами являются технологические, хозяйственные и природные, которые играют существенную роль в распространении и течении болезни [2]. Поэтому концепция борьбы с некробактериозом должна основываться на комплексном применении организационно-хозяйственных, ветеринарно-санитарных, лечебно-профилактических мероприятий в сочетании с вакцинацией животных [4].

Разработка эффективных средств специфической профилактики некробактериоза сельскохозяйственных животных, обеспечивающих формирование у привитых животных напряженного иммунного ответа после вакцинации, имеет большое научное и практическое значение.

Цель работы – дать оценку профилактической эффективности сорбированной инактивированной вакцины против некробактериоза животных.

Материалы и методы исследований

Эффективность экспериментальной сорбированной инактивированной вакцины оценивали по реактогенности, уровню противонекробактериозных антител в сыворотке крови вакцинированных домашних северных оленей

($n = 90$), в условиях КРО «Нутендли» Нижнеколымского района Республики Саха (Якутия), крупного рогатого скота ($n = 300$) из хозяйств Московской области и наблюдениям по заболеваемости животных после вакцинации. Титр специфических противонекробактериозных антител определяли в реакции агглютинации (РА), с использованием антигена некробактериозного (производство ФКП «Щелковский биокombинат») в отделе иммунологии ФГБНУ ВНИТИБП.

В опытах на поголовье КРС по принципу аналогов формировали две группы животных, которых иммунизировали в дозе 0,4 см³ однократно (группа 1); двукратно – первая доза – 0,4 см³ и через 4 недели вторая доза – 0,4 см³ (группа 2). В качестве контроля использовали животных (группа 3), которых иммунизировали однократно в дозе 0,4 см³ коммерческой эмульгированной вакциной производства ФКП «Щелковский биокombинат», согласно инструкции по применению. Оленей экспериментальной группы иммунизировали сорбированной инактивированной вакциной против некробактериоза однократно в дозе 0,2 см³, контрольную группу животных иммунизировали коммерческой эмульгированной вакциной производства ФКП «Щелковский биокombинат», согласно инструкции по применению.

Результаты и их обсуждение

Оценку эффективности сорбированной инактивированной вакцины в сравнении с эмульгированной вакциной против некробактериоза на основе экзотоксина вакцинного штамма *F. necrophorum* «О-1» в масляном адыуванте проводили по результатам напряженности и длительности иммунного ответа, а также по проявлению симптомов заболевания у вакцинированного поголовья КРС и оленей в течение двух лет после ежегодной вакцинации (срок наблюдения). Вакцинация животных против некробактериоза оценивается эффективной, если титр в РА противонекробактериозных антител в сыворотке крови иммунизированных животных составляет не менее 1:16 [3].

Результаты серологического исследования на наличие противонекробактериозных антител сывороток КРС и оленей, взятых через 9 и 12 месяцев после введения вакцины, представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Результаты исследований сыворотки крови КРС

Срок после вакцинации	Титр антител в РА	Количество сывороток (%) от общего в группе		
		группа 1	группа 2	группа 3
9 месяцев	1:16	80	10	20
	1:32	10	10	60
	1:64	10	40	20
	1:128	–	40	–
12 месяцев	1:16	50	–	50
	1:32	–	20	20
	1:64	–	40	30
	1:128	–	40	–

Таблица 2. Результаты исследований сыворотки крови оленей в РА

Срок после вакцинации	Титр антител в РА	Количество сывороток (%) от общего в группе	
		Сорбированная вакцина	Эмульгированная вакцина
9 месяцев	1:16	71,4	75,0
	1:32	28,6	25,0
12 месяцев	1:16	60,0	80,0
	1:32	30,0	20,0
	1:64	10,0	—

В результате проведенных исследований установлено, что в сыворотке крови КРС группы 1 уровень агглютинирующих противонекробактериозных антител был выше 1:16 у 80,0 % животных к 9-му месяцу после вакцинации и сохранялся у 50,0 % КРС к 12-ти месяцам. В сыворотке крови животных группы 2 максимальный титр антител 1:128 регистрировался у 40,0 % КРС через 9 и 12 месяцев. Полученные данные свидетельствуют о том, что двукратная вакцинация КРС в суммарной дозе 0,4 см³ внутрикожно через 4 недели после первого введения способствует формированию у животных более напряженного иммунного ответа и является оптимальной.

Представленные в табл. 2 результаты исследования сыворотки крови оленей после однократной вакцинации в дозе 0,2 см³ показали также формирование напряженного и продолжительного (до 12 месяцев) иммунного ответа. Как видно из представленных данных, уровень агглютинирующих противонекробактериозных антител выше титра 1:16 регистрировался у 71,4 % оленей через 9 месяцев, который сохранялся у 60,0 % животных к 12 месяцам. Максимальный титр антител 1:64 регистрировали у 10,0 % оленей, привитых сорбированной вакциной.

У КРС и оленей, привитых эмульгированной вакциной, выявлен напряженный до 12 месяцев после вакцинации иммунный ответ, сравнимый с таковым у животных, привитых сорбированной вакциной. Однако необходимость ревакцинации через 6 месяцев и признаки реактогенности являются существенными недостатками эмульгированной вакцины.

Таким образом, результаты испытаний в производственных условиях показали, что сорбированная инактивированная вакцина против некробактериоза безвредна и индуцирует у привитых животных формирование напряженного и длительного – до 12 месяцев – иммунного ответа без проявления признаков реактогенности.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют об эффективности сорбированной инактивированной вакцины против некробактериоза при вакцинации северных оленей и крупного рогатого скота. Внедрение в ветеринарную практику сорбированной инактивированной вакцины позволит разработать научно обоснованные рекомендации по оздоровлению поголовья животных от некробактериоза.

Литература

1. Адаптация и сохранность импортируемого скота и племенного поголовья в условиях регионов Российской Федерации с использованием инновационных лечебно-профилактических средств и методик / В. Н. Боровой [и др.] // Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Армавир, 2016. – С. 137–153.
2. Джупина, С. И. Особенности профилактики некробактериоза крупного рогатого скота / С. И. Джупина // Ветеринария сегодня. – 2015. – № 2 (13). – С. 21–26.
3. Опыт борьбы с некробактериозом животных / Ю. Д. Караваев [и др.] // Ветеринария. – 2003. – № 7. – С. 7.
4. Проблемы борьбы с некробактериозом: заблуждения и реальность / А. А. Сидорчук [и др.] // Ветеринария. – 2006. – № 2. – С. 5–6.
5. Проблемы сохранности высокопродуктивных коров / В. А. Мищенко [и др.] // Вет. консультант. – 2005. – № 21. – С. 3–4.

Поступила 30.06.2017 г.

УДК 619:579.842

О. Н. Новикова, Ю. В. Ломако

ВЛИЯНИЕ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ КОЛИБАКТЕРИОЗА, САЛЬМОНЕЛЛЕЗА, КЛЕБСИЕЛЛЕЗА, ПРОТЕОЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ НА ПОКАЗАТЕЛИ ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ ГРАНУЛОЦИТОВ КРОВИ ТЕЛЯТ

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышеслесского»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Желудочно-кишечные заболевания молодняка крупного рогатого скота являются одной из наиболее распространенных проблем инфекционной патологии животных во многих странах мира, в том числе и в Беларуси. Как правило, в большинстве случаев эти заболевания имеют сложную этиологическую структуру, развиваются на фоне выраженного иммунодефицита и проявляются в форме тяжелых патологических состояний.

Известно, что наиболее эффективным превентивным методом борьбы с инфекционными заболеваниями является активная вакцинация стельных коров и телят. Вакцины, содержащие антигены возбудителя, индуцируют в организме иммунный ответ, т. е. выработку специфического иммуноглобулина G и образование CD⁴ – клеток памяти. Принято считать, что эффективность вакцинации зависит от количества специфических иммуноглобулинов, которые появляются в крови животных после иммунизации. Однако иммунологический

эффект от введения вакцины имеет более широкую системную вариабельность и зависит от адъюванта, входящего в ее состав. Большинство известных адъювантов влияют на показатели адаптивного (специфического) иммунного ответа в результате активации клеток врожденного иммунитета. Запуск механизма активации начинается с локальной воспалительной реакции в месте введения вакцины, захвата и процессинга макрофагами и моноцитами поступившего антигена и дальнейшей миграции антиген-презентирующих клеток в регионарные лимфатические узлы, где и происходит презентация антигена Т- и В-лимфоцитам [1].

Широкое применение при производстве вакцин для ветеринарии получили адъюванты на основе эмульсий (вода в масле, масло в воде, вода–масло–вода). К этому виду адъювантов относятся монтаниды (*Montanide*), которые созданы на основе минерального масла. В настоящее время адъюванты *Montanide* ISA 25, ISA 70, ISA 201, ISA206 (Seppic, Франция) являются базовыми при производстве бактериальных, вирусных и смешанных бактериально-вирусных инактивированных вакцин в Институте экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышеселеского.

Вакцина инактивированная эмульгированная для профилактики колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза и протеоза (КСКП) крупного рогатого скота содержит в своем составе инактивированные корпускулярные бактериальные антигены адгезивных штаммов *Escherichia coli* (A20, K88, F41, K99), *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium*, *klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis* и адъюванты *Montanide* ISA 201 или ISA 206. Вакцина рекомендована для применения у стельных коров, а также у телят разных возрастных групп.

Иммунная система телят неонатального периода (с момента рождения до 28 дней) имеет особенности развития и ее защитные функции изначально формируются за счет специфических колостральных иммуноглобулинов, материнских лейкоцитов, различных биологически активных белков, пептидов и цитокинов, входящих в состав молозива и молока. Определить уровень специфических поствакцинальных антител у телят на этом фоне практически не представляется возможным. При этом оценка функциональной активности клеток моноцитарного ряда врожденного иммунитета дает возможность определить уровень неспецифической защиты телят от широкого спектра бактериальных патогенов, циркулирующих в животноводческих хозяйствах.

В связи с этим представляется важным изучить влияние вакцины КСКП и входящих в ее состав адъювантов *Montanide* ISA 201 или ISA 206 на показатели фагоцитарной активности гранулоцитов телят на разных сроках наблюдения.

Материалы и методы исследования

В работе использовали 20 телят в возрасте 5–7 сут., препарат КСКП (производственная серия № 6), адъюванты ISA201 и ISA206 (*Montanide*, Франция).

При изучении фагоцитарной активности гранулоцитов определяли фагоцитарный показатель, фагоцитарное число, процент завершенного фагоцитоза.

20 телят делили на четыре группы; 1-й группе вводили вакцину КСКП, 2-й и 3-й группам телят – ISA201 и ISA206 (*Montanide*, Франция) соответственно в соотношении 1:1 с 0,85 % ФР, 4-й группе (контроль) – 0,85 % ФР. Все указанные препараты вводили телятам однократно внутримышечно в область шеи в объеме 1,0 мл/теленка. На 14, 30, 45, 60-е сутки после введения препаратов у телят отбирали кровь с 0,5 %-ным цитратом натрия. Тест-микробом служила суточная культура условно-патогенного штамма *Staphylococcus epidermidis* (КМИЭВ-B177) с концентрацией микробных тел $1 \cdot 10^9$ м.т./мл.

Определяли фагоцитарный показатель – процент (%) гранулоцитов, участвующих в фагоцитозе, фагоцитарное число – среднее арифметическое количество микробов в одном гранулоците. Для определения способности гранулоцитов крови дезинтегрировать микробные клетки изучали степень завершенности фагоцитарного процесса. Для этого кровь инкубировали с микробной взвесью в соотношении, соответственно, 4:1 в течение 45 мин при температуре 37 °С. По истечении этого срока лейкоцитарно-микробную взвесь распределяли в виде двух мазков на поверхности 2,0 %-го сердечно-мозгового агара в чашке Петри. Через 3 ч после пребывания в термостате готовили препарат-отпечаток с мазков. Мазки фиксировали и окрашивали по Романовскому–Гимзе. Жизнеспособные микробные клетки окрашивались в сине-фиолетовый цвет, а погибшие – в розово-синий.

Оценку количества лейкоцитов в крови телят осуществляли только в группе телят, вакцинированных КСКП с использованием гематологического анализатора Mythic 18 (Швейцария).

Статистическую обработку цифровых данных проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента [2].

Результаты и их обсуждение

Из представленных в табл. 1 данных следует, что вакцина КСКП обладает выраженной фагоцитоз-стимулирующей активностью. При этом на 30-е и 45-е сутки после иммунизации телят достоверно ($P \leq 0,01$) увеличивался фагоцитарный показатель гранулоцитов крови. Аналогичные результаты получены и при внутримышечном введении адъювантов *Montanide* ISA201 и ISA206.

Фагоцитарное число на всех сроках наблюдений во всех экспериментальных группах телят практически не изменялось.

Поскольку фагоцитарный показатель отражает преимущественно изменения в хемотаксисе фагоцитов, но не характеризует биохимические процессы и степень дезинтеграции микробов внутри фагоцитов у телят, были охарактеризованы изменения не только фагоцитарного показателя, но и внутриклеточных процессов внутри фагоцитов, в частности завершенности фагоцитоза.

Показано, что вакцина КСКП стимулирует дезинтегрирующие свойства фагоцитов. Адъюванты *Montanide* ISA201 и ISA206 также ускоряют дезинтеграцию стафилококков внутри фагоцитов. При этом стимуляция препаратами

фагоцитарного процесса наблюдалась в течение 30 сут. после введения препаратов. На более поздних сроках наблюдения (45 и 60 сут.) показатель завершеного фагоцитоза практически не отличался от значения завершеного фагоцитоза в контрольной группе животных.

Таблица 1. Изучение фагоцитарной активности гранулоцитов крови телят ($M \pm m$)

Препарат	Срок наблюдения, дней			
	15	30	45	60
<i>Фагоцитарный показатель, %</i>				
Контроль (интактные телята)	46,6 ± 1,8	34,2 ± 1,2	38,3 ± 0,9	35,2 ± 1,5
КСКП	47,2 ± 3,2	58,2 ± 2,2*	49,2 ± 3,6*	39,2 ± 2,3
ISA-206	46,4 ± 1,2	58,6 ± 0,8*	56,7 ± 1,7*	34,3 ± 2,8
ISA-201	49,2 ± 1,8	52,3 ± 2,7*	57,7 ± 3,8*	40,2 ± 1,9
<i>Фагоцитарное число</i>				
Контроль (интактные телята)	3,7 ± 0,7	3,4 ± 0,3	3,8 ± 0,5	3,9 ± 0,8
КСКП	3,6 ± 0,5	3,2 ± 0,9	4,2 ± 0,8	3,7 ± 0,7
ISA-206	3,6 ± 0,3	3,7 ± 0,8	3,7 ± 0,7	3,6 ± 0,3
ISA-201	4,5 ± 0,7	3,7 ± 0,4	4,4 ± 0,9	3,8 ± 0,5
<i>Показатель завершенности фагоцитоза, %</i>				
Контроль (интактные телята)	27,8 ± 2,8	28,6 ± 2,6	45,2 ± 2,2	20,3 ± 2,1
КСКП	45,2 ± 2,9*	43,1 ± 1,4*	46,9 ± 2,7	30,5 ± 2,8
ISA-206	48,9 ± 2,1*	40,0 ± 2,1*	43,5 ± 1,9	28,7 ± 2,1
ISA-201	57,9 ± 3,3*	46,1 ± 2,8*	51,7 ± 2,9	24,6 ± 2,2

*Достоверное различие с контролем при $p < 0,01$.

Примечание: показатели фагоцитоза у телят перед введением препаратов (возраст телят – 5–7 дней); фагоцитарный показатель – $48,6 \pm 1,8$; фагоцитарное число – $3,0 \pm 0,7$; показатель завершенности фагоцитоза – $53,6 \pm 3,8$.

В контрольной группе телят отмечали достоверное снижение ($P \leq 0,01$) фагоцитарного показателя на 30-е, 45-е и 60-е сутки наблюдения.

Количество лейкоцитов в крови телят опытной группы было снижено по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

Таблица 2. Влияние вакцины КСКП на количество лейкоцитов в крови телят

Показатель	15-е сутки		30-е сутки		45-е сутки		60-е сутки	
	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	6,4 ± 1,8	4,7 ± 0,5	6,4 ± 1,8	4,7 ± 0,5	7,2 ± 0,5	4,6 ± 0,4*	6,6 ± 0,6	5,6 ± 0,5

*Достоверное различие с контролем при $p < 0,01$.

Заключение

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о выраженной фагоцитоз-стимулирующей активности вакцины КСКП и входящих в ее состав адъювантов *Montanide ISA201* или *ISA206*.

Стимуляция вакциной КСКП неспецифического звена иммунитета сопровождается непрямым противовоспалительным действием, которое проявляется в снижении количества лейкоцитов в крови иммунизированных телят.

Таким образом, применение вакцины КСКП у телят в раннем неонатальном возрасте приводит к повышению функциональной активности гранулоцитов крови, которая определяет иммунотерапевтический эффект вакцинации.

Литература

1. Petrovsky, N. Vaccine adjuvants: Current state and future trends / N. Petrovsky, J. C. Aguilar // *Immunology and cell biology*. – 2004. – Vol. 82. – P. 488–496.
2. Лакин, Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. – М. : Высш. шк., 1980. – 293 с.

Поступила 27.06.2017 г.

УДК 615.281

В. И. Заерко¹, С. С. Абакин², М. И. Потапович³, В. А. Прокулевич³

**ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННОЙ АКТИВНОСТИ
ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ЛЕПТОСПИРОЗА ЖИВОТНЫХ
ИНАКТИВИРОВАННОЙ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ «ЛЕПТОГАРД»
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ В КАЧЕСТВЕ ИММУНОСТИМУЛЯТОРА
ПРЕПАРАТА «БИФЕРОН-Б» ПРОИЗВОДСТВА
ООО «НПЦ ПРОБИОТЕХ» (РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ)**

¹ФКП «Ставропольская Биофабрика», г. Ставрополь, Россия

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
овцеводства и козоводства», г. Ставрополь, Россия

³Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

Введение

Иммунная система многокомпонентная, и ее нормальное функционирование обеспечивается сложной сетью взаимосвязанных информационных сигналов. Имунокомпетентные клетки синтезируют ряд соединений, способных оказывать регулирующее влияние не только на саму иммунную систему, но и на другие системы организма [1].

Развитие иммунологии привело к пониманию того, что функции иммунной системы могут существенно меняться (в сторону угнетения или усиления) под влиянием самых различных эндогенных и экзогенных факторов [2].

Хроническое течение болезней различного генеза, а также бессистемное длительное использование антибиотиков и других антиинфекционных препаратов способствовало появлению организмов с ослабленной иммунной системой и накоплению в популяциях животных значительной доли иммунодефицитных генотипов. В связи с этим возникла необходимость в новых эффективных средствах защиты от различных заболеваний с непосредственным действием на иммунную систему [3].

В настоящее время в неблагополучных зонах по лептоспирозу с целью специфической профилактики широко используют вакцину против лептоспироза животных инаktivированную лиофилизированную «Лептогард». Вакцина изготовлена из смеси биологически активных клонированных штаммов лептоспир серогрупп *Pomona*, *Tarassovi*, *Icterohaemorrhagiae*, а по эпизоотическим показателям и серогруппы *Canicola* (I вариант – для иммунизации свиней); или из лептоспир серогрупп *Pomona*, *Tarassovi*, *Grippotyphosa*, *Sejroe* (серовар *Hardjo*) (II вариант – для иммунизации крупного рогатого скота, овец и коз), инаktivированных мертиолятом с добавлением в качестве адьюванта геля гидрата окиси алюминия.

Для повышения иммуногенной активности вакцины в ее состав вводят адьюванты – вещества разнообразной химической природы, неспецифически стимулирующие иммунный ответ к различным антигенам. В качестве адьювантов используют гидроксид алюминия, аэросил, минеральные масла, ДЭАЭ-декстран, сапонин; кроме того, применяют синтезированные вещества – мурамилдипептид, полианионы, поликатионы и др. Механизмы действия адьювантов разнообразны и до конца не изучены. Одни из них вызывают воспалительную реакцию, другие способствуют депонированию антигенов и замедляют их гидролиз, третьи способствуют усилению поглощения антигенов макрофагами и антиген-представляющими клетками [4].

К адьювантам предъявляют следующие требования: они должны быть нетоксичными в используемых дозах, не вызывать побочных реакций в организме, сами не обладать антигенной активностью, должны стимулировать развитие длительного гуморального и клеточного иммунитета.

Материалы и методы исследований

Работа проведена в ФКП «Ставропольская Биофабрика», в лаборатории инфекционных, незаразных болезней и паразитарных болезней (ФГБНУ ВНИИОК).

Объектом исследования служили крупный рогатый скот, сыворотка крови.

Было отобрано две группы телят (по 5 голов) в возрасте трех месяцев, черно-пестрой породы, средним весом 90 кг.

Для серологической диагностики лептоспироза использовали реакцию микроагглютинации (РМА).

В опыте использовали вакцину «Лептогارد» серии № 1, изготовленную 27.01.2017 г.

В качестве адъюванта использовали биопрепарат «Биферон-Б», который проявляет антивирусную и иммуностимулирующую активность у крупного рогатого скота (телят, молодняка и взрослых особей).

Эффект биопрепарата определяется суммарным действием экзогенных белков непосредственно на пораженные вирусом клетки, быстрой индукцией системы эндогенных цитокинов, клеточного и гуморального иммунитета. Препарат повышает резистентность организма животных к воздействию ДНК- и РНК-содержащих вирусов, а также патогенных микроорганизмов. Он усиливает напряженность иммунитета, проявляет антистрессовый эффект и снимает поствакцинальный синдром при вакцинациях. Присутствие в препарате интерферонов I (альфа) и II (гамма) типа обуславливает синергизм действия на организм.

Результаты и их обсуждение

При формировании экспериментальных групп проводили исследования для выявления инфицированных животных на наличие антител к лептоспирам серогрупп: *Grippotyphosa*, *Pomona*, *Tarassovi*, *Sejroe* (серовар *hardjo*), в разведении сыворотки 1:10 по РМА (табл. 1).

Таблица 1. Результаты РМА телят

Индивидуальный номер животного	Дата постановки РМА	Серогруппа лептоспир				Результаты РМА
		<i>Grippotyphosa</i>	<i>Pomona</i>	<i>Tarassovi</i>	<i>Sejroe</i> (серовар <i>hardjo</i>)	
00101	24.02.2017 г.	—	—	—	—	Все десять телят имеют серонегативный фон
00102		—	+	—	+	
00103		—	—	—	—	
00104		—	—	—	—	
00105		—	—	+	+	
00106		—	—	—	—	
00107		—	—	—	—	
00108		—	+	—	—	
00109		—	—	—	—	
00110		—	—	—	+	

В опыте использовали две группы телят (по 5 голов) в возрасте трех месяцев. Для вакцинации контрольной I группы телят в количестве 5 голов вакцину растворяли стерильным физиологическим раствором из расчета 1:4, т. е. в 40 см³ и вводили внутримышечно в дозе 2,0 мл.

Для вакцинации II группы телят в количестве пяти голов в качестве растворителя использовали неразведенный препарат «Биферон-Б» в том же соотношении и одинаковой дозе при инъекции. Наблюдение за животными вели

в течение 90 дней с ежедневной термометрией. На 15-е, 20-е, 25-е, 30-е, 40-е, 50-е, 60-е, 90-е сутки наблюдений у всех десяти опытных животных брали кровь и получали сыворотку крови для постановки РМА. Результаты, приведенные в табл. 2, свидетельствуют, что антитела к лептоспирам всех четырех серотипов в сыворотках крови вакцинированных трехмесячных телочек в титре 1:33–1:35 появляются уже через 15 сут. после однократного введения вакцины, разведенной как традиционным физраствором, так и адьювантом, в роли которого выступает биопрепарат «Биферон-Б». Затем, в течение 10 последующих суток происходит стремительный десятикратный рост напряженности иммунного ответа, выраженный в титрах антител. Однако уже на 30-е сутки после вакцинации индекс напряженности начинает снижаться. При этом отмечается тенденция к более высокой степени выраженности иммунитета при применении вакцины, разбавленной биопрепаратом «Биферон-Б». Статистически достоверными различия этого параметра между контрольной и опытной группами становятся после 60-х (24,0 %) и 90-х (80,0 %) суток наблюдения. Однако эти различия возникают не за счет прироста титра антител, а за счет разных темпов падения напряженности иммунитета в контрольной и опытной группах животных.

Анализ полученных результатов позволяет сделать предварительные заключения о возможных механизмах влияния биопрепарата «Биферон-Б» на процесс иммунизации животных.

Таблица 2. Результаты антигенной активности сыворотки крови телят в РМА

Дата проведения опыта	Индивидуальный номер животного	Доза вакцины, мл	Штаммы лептоспир	Титр антител по дням, сутки							
				15-е	20-е	25-е	30-е	40-е	50-е	60-е	90-е
I группа (контрольная)											
27.02.2017 г.	00101	2,0	Pomona	1:25	1:94	1:540	1:136	1:268	1:390	1:160	1:26
	00102		Tarassovi	1:40	1:46	1:248	1:56	1:30	1:18	1:16	1:10
	00103		Grippotyphosa	1:37	1:61	1:394	1:53	1:226	1:368	1:86	1:53
	00104		Sejroe (серовар hardjo)	1:30	1:40	1:113	1:17	1:10	1:26	1:17	1:12
	00105		Средний титр	1:33	1:60	1:324	1:66	1:98	1:200	1:70*	1:25**
II группа («Биферон-Б»)											
27.02.2017 г.	00106	2,0	Pomona	1:25	1:100	1:560	1:280	1:164	1:400	1:200	1:54
	00107		Tarassovi	1:40	1:64	1:260	1:50	1:42	1:26	1:24	1:20
	00108		Grippotyphosa	1:42	1:74	1:410	1:62	1:248	1:398	1:96	1:84
	00109		Sejroe (серовар hardjo)	1:34	1:46	1:120	1:32	1:20	1:40	1:28	1:20
	00110		Средний титр	1:35	1:71	1:338	1:106	1:119	1:216	1:87*	1:45**

* $P \leq 0,01$.

** $P \leq 0,05$.

Абстрагируясь от сложных функциональных взаимодействий в процессе формирования иммунного ответа на вакцинацию, остановимся на двух главных параметрах: реакции презентации антигена и формировании «иммунной памяти». Именно гамма-интерферон, входящий в состав биопрепарата, регулирует вышеперечисленные реакции. Реакция презентации антигена имеет наибольшее значение на начальных этапах формирования иммунитета. Здесь мы не выявили особой разницы в данных по контрольной и опытной группам. Однако надо иметь в виду, что сама вакцина в своем составе содержит в качестве адьюванта гель гидрата окиси алюминия, что должно сказываться на эффективности иммунизации именно на начальных этапах процесса. Отсутствие эффекта «Биферона-Б» на реакцию презентации антигена, по-видимому, является следствием низкой концентрации препарата, расчет которой производился исходя из требований инструкции на вакцину «Лептогард» – 2 мл на животное. Максимальная эффективность интерферона проявляется при действующем объеме введения 1 мл на 10 кг массы животного. Учитывая то, что трехмесячные телята достигали массы 90 кг, действующая концентрация биопрепарата занижена более, чем в 4,0 раза. Тем не менее даже такая низкая концентрация биопрепарата позволила выявить статистически достоверное влияние биопрепарата на «иммунную память», формирующуюся в процессе специфической профилактики, индуцируемую гамма-интерфероном.

Заключение

Учет результатов, полученных в РМА при постановке опыта, подтверждает эффективность использования «Биферон-Б» в качестве растворителя для вакцины против лептоспироза животных инактивированной лиофилизированной «Лептогард». Препарат нетоксичен в используемых дозах, не вызывает побочных реакций в организме, стимулирует гуморальный и клеточный иммунитет. Выявлена зависимость длительности циркуляции антител в крови вакцинированных телочек от степени развития «иммунной памяти» и показана возможность регуляции этого параметра путем применения биопрепарата «Биферон-Б» для корректировки процесса формирования иммунитета при введении противолептоспирозной вакцины. Контроль интенсивности иммунного ответа на введение противолептоспирозной вакцины позволит скорректировать сроки проведения вакцинации и ревакцинации крупного рогатого скота в каждом хозяйстве. Это, в свою очередь, очень важно для обеспечения благополучной эпизоотической ситуации, особенно в зонах природных очагов лептоспироза.

Использование биопрепарата «Биферон-Б» в качестве растворителя-адьюванта вакцины «Лептоград» у вакцинируемых животных позволит достичь более напряженного иммунного ответа. Однако для оптимизации процесса иммунизации требуются дополнительные исследования по фармакодинамике

действия адьюванта путем увеличения объема введения Биферона-Б до объема в 1 мл/10 кг массы животного, что даст максимальное значение в проявлении иммунной реакции представления антигена и максимального выражения механизмов, формирующих продолжительный, вплоть до пожизненного, иммунитет.

Литература

1. Дранник, Г. Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г. Н. Дранник. – М. : МИА, 2003. – 603 с.
2. Машковский, М. Д. Препараты, корректирующие процессы иммунитета (иммуномодуляторы, иммунокорректоры) / М. Д. Машковский // Лекарственные средства : пособие для врачей. – М. : Медицина, 1993. – Ч. II. – С. 192–209.
3. Хаитов, Р. М. Иммуномодуляторы: классификация, фармакологическое действие, клиническое применение / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Ревматология. Иммунология. Аллергология. – 2004. – Т. 85, № 7. – С. 32–38.
4. Иммунология / Е. С. Воронин [и др.]. – М. : Колос-пресс, 2002. – 406 с.

Поступила 24.06.2017 г.

УДК 619:615.371:619:616.99

М. В. Якубовский

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ВАКЦИН ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЖИВОТНЫХ

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелецкого»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Средства лечения и профилактики болезней животных, в том числе и паразитарных, начали изыскивать и применять с давнего времени, собственно говоря, когда приручили животных и обратили внимание на проявление у них различных патологий, падежа, снижения продуктивности и, вследствие этого, больших потерь. Длительное время изыскание средств лечения больных животных носило эмпирический характер, применяли различные растения и фармакологические средства, а значительно позже были созданы научные подходы к диагностике, лечению и профилактике болезней животных.

Противопаразитарные препараты, вначале созданные на основе одного действующего вещества (саптонин, фасциолин, пиперазин, фенасал и др.), со временем уступили место более современным (ивермектин, циперметрин,

группа бензимидазола и др.), затем появились комплексные препараты (клоза-мектим, трифастим, феналзол и др.) и, наконец, комплексные препараты с иммуностимулирующими свойствами (тетрагельминтоцид, гельминтовет, полипарацид, янсеvit и др.). Две последние группы препаратов в определенной степени решали и проблему резистентности паразитов к препаратам.

Тем не менее фармакологические препараты в неблагополучных хозяйствах приходится применять достаточно часто в связи с реинвазией животных паразитами. Да и проблема резистентности при этом решается не в полной мере.

Поэтому с конца XX в. в мире постоянно проводятся исследования по созданию противопаразитарных вакцин.

Материалы и методы исследований

Для иммунизации животных против гельминтов некоторые авторы применяли экстракты личинок аскарид (М. Benkov, 1982), ослабленные ультрафиолетовыми лучами яйца аскарид (J. F. Urban, F. G. Tromba, 1984), обработанные ультразвуком микрофилярии онхоцерк (S. Townson, A. E. Bianco, 1982), облученные личинки диктиокаул (R. K. Bain, G. M. Urquhart, 1988). Разрабатывали также различные вакцины для вакцинации кур против эймерий, в том числе R. Jungmann с соавт. (1990) создал такую вакцину с применением методов генной инженерии. F. Katzer с соавт. (2011) разработал вакцину против токсоплазмоза, где в качестве антигена использовал ослабленных токсоплазм. Для профилактики пироплазмоза собак на фирме «Merial» изготовили из ослабленных *Babesia canis* вакцину, при иммунизации которой иммунитет сохраняется в течение 6 месяцев. R. P. Herd (1975) против эхинококкоза собак приготовил вакцину из инкубированных *in vitro* онкосфер эхинококков. Путем использования облученных метацеркарий N. J. Campbell (1978) подготовил вакцину против фасциолеза.

Э. Х. Даугалиева (1991) разрабатывала конъюгированные препараты, полученные на основе полиэлектролитов и антигена для применения при ряде гельминтозов животных.

Нами (М. В. Якубовский, А. П. Лысенко, В. В. Милюткин и соавт., 1993–1995) проводились исследования по получению вакцины против стронгилоидоза жвачных. Инвазионную культуру личинок стронгилоид получали от кроликов-доноров, которых заражали полученными от инвазированных ягнят стронгилоидами. Инвазионные личинки стрингилоид деинтегрировали, консервировали, в качестве адъюванта использовали неполный адъювант Фрейнда.

Вакцину для профилактики гиподерматоза крупного рогатого скота готовили из личинок *Hypoderma bovis* II и III стадии развития. Их измельчали, гомогенизировали и получали антиген. В качестве адъюванта использовали *Montanide ISA 70*.

Результаты и их обсуждение

В результате инвазирования от каждого кролика в течение 15–19 дней получили в общей сложности 10 млн личинок стронгилоид. Вакцина была стерильна, безвредна, нетоксична, аэрогенна, с содержанием белка 58,67 мг/мл.

После введения вакцины ягнятам отклонений от физиологического состояния животных не установлено. После вакцинации ягнят вакциной в дозе 15 мг белка/кг живой массы через 58 дней эффективность ее составила 80,0 %, через 97 дней – 85,71 %.

При использовании ИФА установлено, что содержание антител в сыворотке крови ягнят после вакцинации вакциной против стронгилоидоза в дозе 15 мг белка/кг живой массы сохранялось достаточно высоким в течение более чем 3 месяцев. Срок годности вакцины – 6 месяцев. Экономическая эффективность применения вакцины составила около 10 тыс. руб. на голову.

Вакцина для профилактики гиподерматоза крупного рогатого скота (ТУ ВУ 600049853.224-2015) по внешнему виду представляет собой эмульсию от серовато-белого до кремового цвета, расфасованную в стеклянные флаконы со сроком годности 12 месяцев. После введения вакцины крупному рогатому скоту вырабатываются специфические антитела против личинок подкожного овода *Hypoderma bovis*. Иммунитет у животных развивается через 21 день после повторной иммунизации и сохраняется в течение 6 месяцев. Вакцину применяют животным перед началом лёта имаго оводов в южных и центральных регионах с 15 апреля до конца мая, в северных регионах – с начала мая до конца июня месяца. Перед применением вакцину подогревают на водяной бане до температуры 37 °С и вводят животным внутримышечно в дозе 3 см³ двукратно с интервалом 21 день. Иногда после введения вакцины у крупного рогатого скота могут наблюдаться местные реакции в виде небольшой припухлости, которая исчезает на 4–5-й день. При работе с вакциной, как и при применении других ветеринарных препаратов, следует соблюдать технику безопасности.

Выводы

1. Анализ научных публикаций в странах СНГ, дальнего зарубежья и собственные исследования свидетельствуют о возможности создания вакцин против возбудителей паразитарных болезней.
2. В мире имеются примеры создания эффективных вакцин и массового их применения.
3. Необходимо совершенствование создания некоторых противопаразитарных вакцин, в первую очередь получения необходимого количества антигена и повышения их эффективности.

Литература

1. Даугалиева, Э. Х. Иммунный статус и пути его коррекции при гельминтозах сельскохозяйственных животных / Э. Х. Даугалиева, В. В. Филиппов. – М. : ВО «Агропромиздат», 1991. – 188 с.
2. Иммунокоррекция в клинической ветеринарной медицине / П. А. Красочко [и др.]. – Минск : Техноперспектива, 2008. – 507 с.
3. Паразитарные зоонозы / под ред. д-ра вет. наук, проф., чл.-корр. Акад. агр. наук Респ. Беларусь М. В. Якубовского. – Минск : Наша идея, 2012. – 384 с.
4. Якубовский, М. В. Вакцина для профилактики гиподерматоза крупного рогатого скота / М. В. Якубовский, Е. А. Степанова // Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики протозоозов, гельминтозов и арахноэнтомозов человека, животных и растений : материалы VIII Междунар. науч.-практ. конф. – Витебск, 2012. – С. 181–183.
5. Якубовский, М. В. Изучение антигенного состава инвазионных личинок *Strongyloides papillosus* / М. В. Якубовский, А. П. Лысенко, В. В. Милюткин // Актуальные проблемы медицинской и ветеринарной паразитологии : тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф. – Витебск, 1993. – С. 65.
6. Якубовский, М. В. Справочник по паразитологии / М. В. Якубовский. – Минск : Наша идея, 2014. – 349 с.

Поступила 25.05.2017 г.

УДК 606.636.5

**И. В. Кукленкова, А. А. Гусев, В. Н. Голдабин,
А. В. Фролов, С. В. Беляков**

ВЛИЯНИЕ ПРАЙМИРОВАНИЯ ЦЫПЛЯТ НА ФОРМИРОВАНИЕ ИММУНИТЕТА ПРИ ПОСЛЕДУЮЩЕЙ ИХ ИММУНИЗАЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЖИВЫХ ВАКЦИН ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ

*АО «Покровский завод биопрепаратов», пос. Вольгинский,
Петушинский р-н, Владимирская обл., Россия*

Введение

Одним из слагаемых успешного развития птицеводства является борьба с инфекционными заболеваниями. В птицеводстве профилактика ньюкаслской болезни (НБ) является важнейшим фактором эпизоотического благополучия птицефабрик [1, 3].

За последние полвека в ветеринарную практику разработано и внедрено множество разных препаратов против НБ. Все эти вакцины можно разделить на три группы: живые, инаktivированные и генно-инженерные (векторные). В птицеводческой практике широкое распространение получили живые вакцины на основе аттенуированных штаммов вируса НБ. В основном они применяются на цыплятах-бройлерах и ремонтном молодняке родительских и промышленных стад.

В последние годы для формирования напряженного иммунитета к вирусу НБ рекомендуется проводить вакцинацию (праймирование) цыплят живыми вакцинами в первые дни жизни крупнодисперсным спреем [2, 4, 5]. Считается, что праймирование птиц способствует созданию иммунитета на слизистых оболочках дыхательного тракта. Этот способ близок к естественному пути заражения птиц вирусом НБ и, соответственно, иммунитет в основном должен развиваться в «органах-мишенях» – верхних дыхательных путях.

В доступной литературе мы не нашли работ о влиянии праймирования на развитие активного постинфекционного иммунитета у цыплят в период дальнейшей их вакцинации живыми вакцинами, поэтому в данной работе мы решили уточнить, как праймирование цыплят, содержащих материнские антитела против вируса НБ, скажется на формировании активного иммунитета после их последующей иммунизации живой вакциной.

Материалы и методы исследований

Опыты проводили на цыплятах (кросс Хайсекс белый) трехдневного возраста, полученных из товарных хозяйств, которых разделили на 5 групп по 10 голов в каждой. В опыте использовали живую вакцину против НБ из штамма «Ла-Сота».

Первую и вторую группы цыплят в трехсуточном возрасте праймировали вакциной против НБ методом спрей. Третью и четвертую группы цыплят не праймировали. Вакцинацию цыплят первой и третьей групп против НБ проводили на 10-й день, а второй и четвертой – на 15-й день. Цыплят вакцинировали орально, вводя пипеткой препарат в ротовую полость, в объеме 0,5 мл в дозе $7,7 \lg \text{ЭИД}_{50}$.

Пятая (далее – контрольная) группа цыплят не подвергалась праймированию и вакцинации, а служила контролем снижения материнского иммунитета.

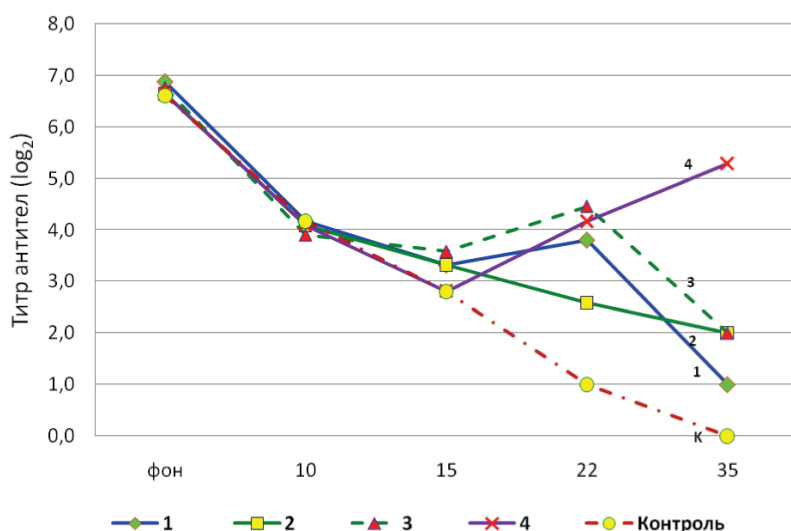
Отбор сывороток крови для контроля иммунитета проводили в возрасте 3, 10, 15, 22 и 35 дней. Исследование сывороток крови для выявления антител (далее – АТ) к НБ проводили методом РТГА.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования по влиянию праймирования на формирование поствакцинального иммунитета при последующей иммунизации цыплят с использованием живых вакцин против НБ представлены на рисунке.

Уровень титров антител к вирусу НБ

У трехсуточных цыплят значительного отличия в титрах выявленных антител (далее – ТА) во всех группах не установлено. Средний ТА (далее – СТА) по этим группам составил $6,7 \log_2$.



Уровень защиты СТА – $4,0 \log_2$

Согласно полученным результатам, динамика снижения материнского иммунитета с 3-го по 10-й день во всех тестируемых группах была одинаковой. В среднем по всем группам уровень напряженности иммунитета снизился на $2,6 \log_2$ – с $6,7 \log_2$ до $4,1 \log_2$.

В возрасте 15 дней на фоне общей тенденции к снижению уровня напряженности иммунитета было зарегистрировано более интенсивное снижение иммунитета в четвертой и контрольной группах – до $2,8 \log_2$, чем в остальных группах. В третьей группе цыплят, вакцинированных в десятидневном возрасте, уровень напряженности иммунитета был самый высокий – $3,6 \log_2$.

К 22-му дню жизни у цыплят первой и третьей групп (праймированы и вакцинированы в 10-й и 15-й дни соответственно) отмечался прирост СТА до $3,8$ и $4,2$ соответственно. Наиболее интенсивный прирост антител до $4,5 \log_2$ к этому времени зарегистрирован в четвертой группе цыплят, вакцинированных на 15-й день жизни и не подвергавшихся праймированию.

С 22-го по 35-й день в первой, второй и третьей опытных группах цыплят отмечена общая динамика снижения СТА. На 35-е сутки выращивания птиц во второй и третьей группах выявлены АТ в титрах $2,0 \log_2$, а в первой группе – в титрах $1,0 \log_2$. В контрольной группе они не были зарегистрированы.

В четвертой группе цыплят (непраймированных и вакцинированных на 15-й день) в отличие от остальных групп цыплят с 22-го по 35-й день зарегистрирован прирост СТА в динамике по возрасту $4,2 \log_2$ и $5,3 \log_2$ на 22-е и 35-е сутки содержания птиц соответственно.

По итогам полученных результатов необходимо отметить следующее.

1. Праймирование цыплят в возрасте 3 дней с последующей вакцинацией в 10 дней в первой группе приводило к приросту СТА с 15-го по 22-й день,

с последующим его снижением на 35-й день до $1,0 \log_2$. При вакцинации праймированных цыплят второй группы в возрасте 15 дней жизни прирост титров антител был незначительным и на 35-е сутки СТА составил $2,0 \log_2$.

2. Незначительное увеличение СТА в первой и второй группах праймированных цыплят на 15-й и 22-й день жизни в сравнении с контрольной группой, по всей видимости, связано с формированием слабого активного иммунитета по фону материнских антител в ответ на праймирование.

3. Вакцинация непраймированных цыплят третьей и четвертой групп на 10-й и 15-й день соответственно показала, что интенсивность формирования поствакцинального иммунитета была выше в четвертой, чем в третьей группе. На 35-й день СТА был больше в четвертой, чем в третьей группе – $5,3 \log_2$ и $2,0 \log_2$ соответственно. Более низкий титр антител в третьей группе по сравнению с четвертой объясняется нейтрализующим действием материнских антител на живую вакцину. При вакцинации цыплят третьей группы на 10-й день титр материнских антител составил $4,0 \log_2$, а при вакцинации цыплят четвертой группы на 15-й день – $2,0 \log_2$.

Выводы

1. Незначительный иммунный ответ у цыплят, полученный в ответ на их праймирование, угнетает формирование поствакцинального иммунитета при последующей иммунизации живой вакциной против НБ.

2. Степень угнетения зависит от сроков повторной вакцинации. При иммунизации через 13 дней после праймирования подавление выработки поствакцинального иммунитета происходит интенсивней, чем через 7 дней после праймирования. Это связано с формированием к 13-му дню большего количества антител, чем через 7 дней после праймирования.

3. Уровень напряженности поствакцинального иммунитета у цыплят, содержащих материнские антитела, в ответ на живую вакцину против НБ зависит от уровня материнского иммунитета, при котором происходила иммунизация птиц.

Литература

1. Вирусные болезни животных / В. Н. Сюрин [и др.]. – М. : ВНИИТиБП, 1998. – 743 с.
2. Джавадов, Э. Д. Особенности вакцинопрофилактики в промышленном птицеводстве / Э. Д. Джавадов, М. Е. Дмитриева // Птица и птицепродукты. – 2011. – № 5. – С. 37–39.
3. Alexander, D. J. Historical aspects. Newcastle Disease / D. J. Alexander. – Boston : Kluwer Acad. Publ., 1988.
4. Antigen localization regulates immune responses in a dose- and time-dependent fashion: a geographical view of immune reactivity / R. M. Zinkernagel [et al.] // Immunol. Rev. – 1997. – Vol. 156. – P. 199–209.
5. Mondino, A. The anatomy of T-cell activation and tolerance / A. Mondino, A. Khoruts, M. K. Jenkins // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 1996. – Vol. 93. – P. 2245–2252.

Поступила 30.06.2017 г.

**И. В. Насонов, Н. В. Кныш, Н. И. Костюк,
О. Л. Гуринович, Л. Т. Волчек**

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИММУНОГЕННОСТИ ВАКЦИН
ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА КУР,
НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ ПТИЦ И ИНФЕКЦИОННОЙ
БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ ПТИЦ**

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Промышленное птицеводство является наиболее специализированной и технически оснащенной отраслью, производящей значительные объемы продукции в относительно короткие сроки [4].

Анализ эпизоотической ситуации по инфекционным болезням птиц в мире показывает, что вирусные болезни по-прежнему представляют угрозу для птицеводческих фабрик и хозяйств. В структуре вирусных болезней птиц особое место занимают так называемые ключевые инфекции – инфекционная бурсальная болезнь (ИББ), инфекционный бронхит кур (ИБК), ньюкасская болезнь (НБ), болезнь Марека и инфекционный ларинготрахеит птиц. В настоящее время эти болезни регистрируются повсеместно во всех странах мира с развитым промышленным птицеводством и наносят огромный экономический ущерб [3].

Своевременное проведение ветеринарных мероприятий – важнейший фактор обеспечения высокой эффективности работы птицеводческих хозяйств [2].

В случае вспышки вируса правильно подобранная и качественная вакцина защитит поголовье от заболевания, а бюджет птицефабрики – от огромных убытков. Ошибка при выборе препарата или его неправильное применение угрожают падежом птицы и еще большими финансовыми потерями, чем при распространении болезней [1].

С целью создания активного иммунитета у птиц применяют живые и инактивированные вакцины, которые, как правило, приводят к стимуляции не только специфических, но и неспецифических факторов и механизмов иммунитета, обеспечивая противоэпизоотическое благополучие птицеводческих хозяйств.

Перечень прививаемых инфекций и схема специфической профилактики строго индивидуальны для каждого птицеводческого предприятия и должны быть основаны на результатах мониторинговых и диагностических исследований, на оценке эпизоотической ситуации, как в хозяйстве, так и в регионе [5].

Цель работы – провести сравнительный анализ иммуногенной активности вакцин производства РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» и зарубежных аналогов.

Материалы и методы исследований

Сравнительную оценку иммуногенности вакцин для профилактики ИБК, НБ и ИББ птиц проводили на КПСУП «Гродненская птицефабрика» в период с января по апрель 2016 г.

Для проведения исследований было использовано 52 960 птиц, подобранных по принципу аналогов и разделенных на две группы.

Молодняк кур I (опытной) группы в количестве 27 680 особей (птичник № 4) иммунизировали вакциной против ИБК из штамма «КМИЭВ-V103», вакциной для профилактики НБ птиц из штамма «КМИЭВ-V104» и вакциной против ИББ птиц из штамма «КМИЭВ-13» (БД-1) производства РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского». Вакцины вводили согласно Инструкциям по применению.

Птиц II (контрольной) группы в количестве 25 280 особей (птичник № 10) иммунизировали вакциной против ИБК «Пулвак IB Праймер» и «Биораль-N120», вакциной для профилактики НБ птиц из штамма «Ла-Сота» тип «В 1», вакциной против ИББ птиц «Авивак-ИББ». Вакцины вводили согласно Инструкциям по применению.

За всей птицей было установлено клиническое наблюдение.

Контрольное взвешивание в I (опытной) группе (птичник № 4) проводили в возрасте 25, 56, 68 и 75 дней, а во II (контрольной) группе (птичник № 10) – в возрасте 28, 59, 71 и 78 дней.

Содержание специфических антител определяли у птиц I и II групп. Кровь у птиц I (опытной) группы для определения специфических антител отбирали в возрасте 5, 47 и 76 дней, у птиц II (контрольной) группы – в возрасте 50 и 79 дней (по 15–20 проб из каждой возрастной группы).

Уровень специфических антител в сыворотке крови птиц против НБ определяли в РТГА. Уровень специфических антител в сыворотке крови птиц против ИБК и ИББ – в ИФА при тестировании сывороток в одном разведении.

Результаты и их обсуждение

В течение эксперимента у вакцинированных птиц I и II групп случаев заболевания инфекционными болезнями, против которых проводилась иммунизация, выявлено не было.

Результаты взвешивания приведены в табл. 1, из которой видно, что динамика прироста массы тела птиц в I и II группах отличалась незначительно и находилась в пределах физиологической нормы. Это говорит о том, что применяемые вакцины не оказывают отрицательного влияния на организм птицы.

Результаты определения уровня специфических антител в сыворотке крови птиц против НБ, ИБК и ИББ представлены в табл. 2–4.

Таблица 1. Динамика массы тела в I (опытной) группе (птичник № 4) и во II (контрольной) группе (птичник № 10)

Сутки после иммунизации	Масса тела, г	Норма, г
<i>I (опытная) группа (птичник № 4)</i>		
25-е	234	230–246
56-е	738	650–690
68-е	923	837–891
75-е	993	960–1020
<i>II (контрольная) группа (птичник № 10)</i>		
28-е	253,5	257–273
59-е	742	690–730
71-е	946	876–930
78-е	1032	985–1045

Таблица 2. Уровень специфических антител в сыворотке крови птиц против НБ в РТГА, log₂

Номер птичника	Возраст птиц, дней				
	5	47	50	76	79
4	4,0 ± 0,3	3,6 ± 0,4	–	4,2 ± 0,4	–
10	–	–	3,2 ± 0,4	–	2,8 ± 0,2

Таблица 3. Уровень специфических антител в сыворотке крови птиц против ИБК в ИФА

Номер птичника	Возраст птиц, дней				
	5	47	50	76	79
4	3106,2 ± 1471,9	2084,8 ± 443,7	–	4415,2 ± 1035,6	–
10	–	–	490,6 ± 148,8	–	2378,8 ± 798,9

Таблица 4. Уровень специфических антител в сыворотке крови птиц против ИББ в ИФА

Номер птичника	Возраст птиц, дней			
	47	50	76	79
4	2526,8 ± 1970,5	–	4662,0 ± 741,5	–
10	–	2696,6 ± 177,5	–	3369,8 ± 734,9

Контроль напряженности поствакцинального гуморального иммунитета показал, что живые сухие вакцины, разработанные в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского», по своей эффективности не уступают зарубежным аналогам.

Заключение

Вакцина против инфекционного бронхита кур из штамма «КМИЭВ-V103», Вакцина для профилактики ньюкаслской болезни птиц из штамма «КМИЭВ-V104» и Вакцина против инфекционной бурсальной болезни птиц из штамма «КМИЭВ-13» (БД-1) по профилактической эффективности соответствуют зарубежным аналогам.

Литература и источники

1. Агроинвестор [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.agroinvestor.ru/technologies/article/14711-privivka-dlya-broylera/>. – Дата доступа: 12.06.2017.
2. Балашов, В. В. Применение препарата ветостим с целью повышения эффективности специфической профилактики ньюкаслской болезни и инфекционного бронхита кур у цыплят-бройлеров и индюшат : дис. ... канд. вет. наук : 06.02.02 / В. В. Балашов. – Омск, 2014. – С. 30–38.
3. Методические рекомендации по специфической профилактике вирусных болезней птиц с применением вакцин отечественного и зарубежного производства. – Минск, 2007. – 20 с.
4. Прудников, А. В. Иммуногенез у цыплят при одновременной вакцинации против болезни Марека, инфекционного бронхита и ньюкаслской болезни с применением иммуномодуляторов : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / А. В. Прудников. – Минск, 2006. – 20 с.
5. Сагитова, М. Г. Гигиеническое обоснование применения полисахарида «Грамо» в птицеводстве : дис. ... канд. биол. наук : 06.02.05 / М. Г. Сагитова. – Казань, 2015. – С. 41–52.

Поступила 15.06.2017 г.

УДК 619:616.98:578.823.2:636.5

И. С. Радюш, И. В. Насонов

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ РЕОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ПТИЦ ИЗ ШТАММА «КМИЭВ-V118»

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышеслесского»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Реовирусная инфекция птиц широко распространена во многих странах мира – США, Англии, Шотландии, Японии, Австрии, Аргентине, Бразилии, Франции, Нидерландах, в том числе в большинстве птицеводств России, Польши и Украины. На территории нашей страны реовирусная инфекция не зарегистрирована, однако существует угроза заноса ее возбудителя [3, 4].

Ведущая роль в комплексе мероприятий по предупреждению и ликвидации вирусных болезней птиц занимает специфическая профилактика. Для

специфической профилактики реовирусной инфекции птиц во всём мире применяют как живые, так и инаktivированные вакцины [1–4].

Иммунизации, главным образом, подвергается ремонтный молодняк кур. Для иммунизации молодых птиц используют живые аттенуированные вакцины с последующим введением инаktivированных вакцин при переводе в родительское стадо перед началом яйцекладки для получения цыплят, иммунных против раннего полевого заражения [3].

В настоящее время для иммунизации во всем мире широко применяются вакцины на основе штаммов реовируса птиц «S1133», «2177», «1733», «СО-8», «2408», «ВНИВИП». В Европе наиболее распространена схема специфической профилактики реовирусной инфекции с применением живой вакцины из штамма «S1133» у цыплят в возрасте 7–10 суток с ревакцинацией в возрасте 35–40 суток, а при переводе в родительское стадо в возрасте 90–120 суток применяют инаktivированную вакцину [3].

Для передачи материнского иммунитета потомству титр антител 1:400–1:800 в ИФА в возрасте 110 суток является достаточным [2].

В Республике Беларусь проводится постоянный мониторинг на всех птицефабриках. Профилактическим вакцинациям подвергается ремонтный молодняк девяти бройлерных птицефабрик с общим числом поголовья 11 760 000, цыплята, а также родительское стадо пяти птицефабрик яичного направления с общим числом поголовья 1 350 000. В Республике Беларусь специфическая профилактика реовирусной инфекции птиц проводится за счёт использования импортных вакцинных препаратов, что требует значительных финансовых затрат. В связи с этим в рамках программы «Инновационные биотехнологии» на 2008–2010 гг. и на период до 2015 г. подпрограмма «Сельскохозяйственная биотехнология (животноводство)» в отделе болезней птиц разработана и зарегистрирована живая вакцина против реовирусного теносиновита птиц из штамма «КМИЭВ-V118». Однако живая вакцина против реовирусной инфекции должна применяться в комплексе с инаktivированной, что свидетельствует об актуальности разработки технологии изготовления и внедрения в производство отечественной инаktivированной вакцины против реовирусной инфекции птиц.

Цель исследований – разработать технологии изготовления инаktivированной эмульгированной вакцины против реовирусной инфекции птиц и определить её профилактическую эффективность.

Материалы и методы исследований

В опытах использовался штамм реовируса птиц «КМИЭВ-V118». Вирус культивировали в перевиваемых линиях культуры клеток почки африканской зелёной мартышки *Vero*. Перевиваемую культуру клеток *Vero* 48 ч культивирования инфицировали штаммом реовируса птиц «КМИЭВ-V118» с множественностью заражения 0,1 ТЦД₅₀/кл, выдерживали при температуре +37 °С

в течение 1 ч для контакта вируса с клеткой. В качестве поддерживающей среды для перевиваемой культуры клеток *Vero* использовали среду DMEM с добавлением 2,0 %-ной сыворотки крови крупного рогатого скота. Заражённую культуру инкубировали при температуре +37 °C.

Размножение вируса в перевиваемой культуре клеток *Vero* определяли по характерному цитопатогенному действию (ЦПД): образование округлых клеток в монослое, синцития и разрушение монослоя.

При развитии специфического ЦПД реовируса в культуре клеток с поражением не менее 80,0 % монослоя проводили сбор вирусосодержащего материала. Для этого опытные матрасы замораживали при температуре –20 °C, затем размораживали при температуре +20...+25 °C, освещали низкоскоростным центрифугированием при 2000 об/мин в течение 30 мин, pH суспензии доводили до 7,4–7,6 раствором натрия гидрокарбоната с массовой долей 7,5 %.

Биологическую активность реовируса определяли с использованием суспензии перевиваемой культуры клеток *Vero* в концентрации $2,5\text{--}3,0 \cdot 10^5$ кл/см³, которую вносили по 100 мм³ в каждую лунку 96-луночного культурального планшета с плоским дном.

На каждое разведение вируса использовали по восемь лунок. Реакцию сопровождали контролем клеток – лунки с культурой клеток этой же партии, в которые вносили поддерживающую питательную среду в объёме 100 мм³. После этого планшеты помещали в CO₂-инкубатор (CO₂ 5,0 %) при температуре +37 °C.

Результаты учитывали через 144–168 ч по проявлению специфической деструкции в заражённой культуре клеток *Vero* при отсутствии таковой в контроле.

Титр вируса рассчитывали по методу Кербера в модификации Ашмарина и выражали в lg ТЦД₅₀/см³.

Для инактивации реовируса использовали рабочий раствор формалина (10,0 %). Для этого в суспензию вируса, предварительно нагретую до температуры +37 °C, добавляли формалин до конечной концентрации 0,1 %. Инактивацию вируса проводили в течение 24 ч при температуре +37 ± 0,5 °C (pH 7,4–7,6) с периодическим перемешиванием суспензии (по 3 мин через каждые 2 ч).

По окончании инактивации проводили нейтрализацию остаточного количества формалина путём диализа в растворе натрия хлорида с массовой долей 0,9 % при температуре +4...+8 °C на протяжении 24 ч.

Испытания на остаточную вирулентность реовируса проводили в монослое культуры клеток *Vero* 48 ч культивирования.

Инактивированный антиген реовируса птиц разводили питательной средой DMEM (1:1) и вносили в культуру клеток *Vero*. После 1-часового контакта при температуре +37 °C антигенсодержащую суспензию сливали, отмывали монослой и заливали средой DMEM с 2,0 % сыворотки крупного рогатого скота, pH 7,4, наблюдение проводили в течение 6 дней.

Флаконы с культурой клеток *Vero*, в которые был внесен инактивированный формалином вирус, замораживали, оттаивали и проводили два дополнительных пассажа в культуре *Vero*.

В качестве адьюванта использовали масляный адьювант Montanide ISA 70 («Serpis», Франция). Экспериментальный образец эмульгированной вакцины готовили путём смешивания инактивированной суспензии реовируса и масляного адьюванта *Montanide ISA 70* в соотношении 30:70 (по весу). Смесь эмульгировали в гомогенизаторе при 1500 об/мин в течение 5 мин до получения однородной эмульсии.

Для испытания эффективности было использовано 100 доз вакцины, инактивированной для профилактики реовирусной инфекции птиц из штамма «КМИЭВ-V118». В условиях ОАО «Агрокомбинат «Дзержинский» 100 цыплят-бройлеров кросса «Росс» иммунизировали в возрасте 90 суток внутримышечно в дозе 0,3 см³. Через 14 и 21 сутки после иммунизации от 15 цыплят опытной и контрольной групп были отобраны образцы крови для проведения серологических исследований в ИФА.

В контрольном птичнике (100 голов) применяли аналогичную вакцину производства Израиль, которой иммунизировали цыплят по той же схеме, что и цыплят в опытной группе.

Результаты и их обсуждение

В течение всего периода наблюдения (30 дней) не было отмечено осложнений, связанных с вакцинацией птицы в опытной и контрольной группах. Клинических признаков заболевания реовирусным теносиновитом у всех вакцинированных особей не отмечалось. Сохранность в опытном и контрольном птичнике также достоверно не отличалась и составила 99,22 и 99,32 % соответственно.

При исследовании сывороток крови в ИФА через 14 и 21 день после иммунизации наборами «IDEXX» (Нидерланды) достоверных отличий титра антител опытной и контрольной групп цыплят выявлено не было (см. таблицу).

Титр антител в сыворотке крови цыплят, иммунизированных инактивированными вакцинами для профилактики реовирусной инфекции птиц

Группы цыплят, иммунизированных инактивированной вакциной	Титр антител в ИФА по срокам исследований	
	14 дней	21 день
Производства Израиль	8401 ± 134	10 667 ± 124
Из штамма «КМИЭВ-V118»	8303 ± 123	10 715 ± 128

Полученные данные свидетельствуют о том, что вакцина инактивированная для профилактики реовирусной инфекции птиц из штамма «КМИЭВ-V118», производства РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышеслесского» и аналогичная израильская вакцина одинаково способны предупредить реовирусный теносиновит птиц.

Заключение

Вакцина, инактивированная против реовирусной инфекции птиц из штамма «КМИЭВ-V118», производства РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» по своей профилактической эффективности не уступает зарубежным аналогам, что подтверждено результатами испытаний в условиях производства.

Литература

1. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц : в 3 ч. / Б. У. Кэлнек [и др.] ; под общ. ред. Б. У. Кэлнека ; пер. с англ. И. Григорьевой [и др.]. – М. : Аквариум Принт, 2011. – Ч. 3. – 404 с.
2. Сергеев, В. А. Вирусы и вирусные вакцины / В. А. Сергеев, Е. А. Непоклонов, Т. И. Алипер ; под ред. В. А. Сергеева. – М. : Библионика, 2007. – 524 с.
3. Специфическая профилактика реовирусного теносиновита кур / Р. Н. Коровин [и др.] // Актуальные проблемы биологии в животноводстве : тез. докл. Третьей междунар. конф. Боровск, Россия, 6–8 сент. 2000 г. / Всерос. НИИ физиологии, биохимии и питания с.-х. животных. – Боровск, 2000. – С. 303–305.
4. Шкиря, В. И. Технология изготовления инактивированной вакцины против реовирусного теносиновита птиц : дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / В. И. Шкиря. – Владимир, 2000. – 125 л.
5. Jones, R. C. Avian reovirus infections / R. C. Jones // Rev. Sci. et Techn. – 2000. – Vol. 19, № 2. – P. 614–625.

Поступила 13.06.2017 г.

УДК 616:615.37.012

Л. С. Люлькова, А. Я. Самуйленко

ПОЛУЧЕНИЕ ИММУННОЙ ХЛАМИДИЙНОЙ СЫВОРОТКИ

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский
и технологический институт биологической промышленности»,
г. Щелково, Московская обл., Россия*

Введение

Для успешного лечения и своевременной профилактики инфекционных заболеваний животных необходим ранний и точный диагноз, для постановки которого применяют диагностические тест-системы с высокой специфичностью и чувствительностью.

Одной из актуальных задач, стоящих перед биотехнологией Российской Федерации, является совершенствование традиционных (РСК, РДП, РНГА, РГА) и разработка новых (ПЦР, ЛЦР, ДНК-гибридизация, ИФА и др.) диагностических тест-систем [4].

Специфичные иммунные сыворотки с высоким титром антител являются обязательным реагентом серологических реакций, применяя которые можно

идентифицировать любой антиген. Известно, что на антителообразование влияет доза антигена, используемого для иммунизации животных. При инокулировании малых доз не происходит достаточного иммунозащитного раздражения; слишком большие дозы вызывают «иммунизаторное утомление», что приводит к снижению активности (титра) сывороток. На иммунный ответ также влияет кратность введения, интервал между инъекциями, место инокуляции антигена, применение иммуностимуляторов, иммунокорректоров: феракрила, тималина, циклофосфана, полиэлектrolитов [1].

Цель исследований – разработать эффективный метод иммунизации с использованием препарата «Иммунофан» (ООО НПП, «Бионокс»), обладающего широким спектром воздействия на организм.

Наш выбор иммуностимулятора был сделан исходя из того, что «Иммунофан» при введении в организм оказывает иммунорегулирующий эффект, усиливает реакции фагоцитоза, способствует более длительной циркуляции специфических антител, восстанавливает нарушенные показатели клеточного и гуморального иммунитета [2].

Материалы и методы исследований

Для получения гипериммунной хламидийной сыворотки использовали клинически здоровых, не моложе 10 месяцев, серонегативных овец. В благополучном хозяйстве отбирали овец 12–18-месячного возраста, помещали в карантин. С интервалом 12–14 дней у овец дважды брали кровь и исследовали в РСК на наличие антител к хламидиям. При отрицательных результатах овец использовали для иммунизации.

Специфическую хламидийную сыворотку от животных-продуцентов получали по схемам иммунизации, которые исключают использование в качестве антигена живых хламидий, что обеспечивает экологическую безопасность для персонала и окружающей среды. Овец иммунизировали очищенным препаратом группоспецифического хламидийного антигена, который получали из производственной серии посевного материала (P.S.) хламидий штамма «Улетово-96-ВНИИТИБП»-ДЕП.

Активность (титр) и специфичность иммунных хламидийных сывороток определяли в РСК и ИФА с применением лабораторного рабочего эталонного препарата хламидийного антигена.

Результаты и их обсуждение

По схеме, представленной в табл. 1, проводили грундиммунизацию овец хламидийным антигеном и через 30 дней – иммунизацию:

1-й день – каждой овце в паховый и подмышечные лимфоузлы вводили по 10 см³ смеси (1:1) инактивированного антигена из хламидий штамма «Улетово-96-ВНИИТИБП» и полного адьюванта Фрейнда, а также по 5 см³ инактивированного хламидийного антигена интратрахеально;

Таблица 1. Схема иммунизации овец хламидийным антигеном

День	Место введения	Доза антигена	Адьювант Фрейнда	
			полный	неполный
1-й	Лимфоузел	5 см ³	5 см ³	—
	Интра трахеально	5 см ³	—	—
3-й	Внутрибрюшинно	5 см ³	—	5 см ³
5-й	Внутрибрюшинно	5 см ³	—	—

3-й день — каждой овце вводили по 10 см³ смеси (1:1) инактивированного хламидийного антигена и неполного адьюванта Фрейнда внутрибрюшинно;

5-й день — каждой овце вводили по 5 см³ инактивированного хламидийного антигена внутрибрюшинно без адьюванта.

После иммунизации за животными вели наблюдение. Пробные крововзятия с целью контроля нарастания титра комплементсвязывающих антител проводили через 10–12 дней после инокуляции антигена. При титре комплементсвязывающих антител ниже 1:40 овцам с интервалом 2 дня вводили внутривенно по 5 см³ хламидийного антигена без адьюванта. Через 12–14 дней после иммунизации сыворотку крови овец исследовали в РСК и при обнаружении антител в титрах 1:40 и выше овец обескровливали.

Как показали результаты исследований, после первого цикла иммунизации титр комплементсвязывающих антител 1:40 был определен в сыворотках крови не более 30,0 % иммунизированных овец. Максимальный титр антител 1:80 был зарегистрирован через 2–3 цикла иммунизации не более чем у 35,0 % овец. Нами был сделан вывод о недостаточно высокой эффективности испытанной схемы иммунизации. Кроме того, интра трахеальное инокулирование антигена вызывало сильный кашель у подопытных животных.

С целью повышения активности иммунных хламидийных сывороток были проведены исследования по разработке эффективной схемы иммунизации с использованием иммуностимулятора «Иммунофан» (ООО НПП, «Бионокс»).

Клинически здоровых овец, проверенных на отсутствие хламидийных антител, иммунизировали антигеном по схемам, различающимся по длительности курса иммунизации, дозам антигена, способам и месту его аппликации.

Наиболее эффективной явилась схема, включающая грундиммунизацию:

1) в предлопаточные лимфатические узлы минимальным количеством антигена и внутримышечно — 1 см³ препарата «Иммунофан» (ООО НПП, «Бионокс»);

2) через 30 дней, предусматривающую:

– с интервалом в 10 дней инокулирование в предлопаточные лимфоузлы в возрастающих дозах (5, 10, 15 см³) антигена и внутримышечное введение по 1 см³ «Иммунофана»;

– через 10–12 дней с интервалом 2 дня внутривенное инокулирование антигена.

Результаты исследований представлены в табл. 2, из данных которой следует, что применение в качестве иммуностимулятора препарата «Иммунофан» позволяет получить специфические сыворотки с высокой активностью (титром) в РСК и ИФА. Максимальный титр антител в РСК, 1:640 (3-я группа), был определен на 60-й день после гипериммунизации. Высокий титр антител в сыворотках крови 90,0–95,0 % овец-продуцентов без дополнительной инъекции антигена сохранялся в течение трех месяцев (шесть крововзятий). Выход сыворотки по разработанной технологии составил 60,0–65,0 %.

Таблица 2. Активность (титр) в РСК и ИФА хламидийных сывороток ($n = 5$)

Дни крововзятий	Активность (титр) иммунных хламидийных сывороток			
	Группа 1*		Группа 2**	
	РСК	ИФА	РСК	ИФА
1	Отриц.	100	Отриц.	1600
14	10	400	80	3200
28	40	1600	160	6400
42	80	3200	320	12 800
56	160	6400	640	25 600
70	80	3200	640	25 600
84	40	1600	320	12 800
98	10	400	160	6400

*Гипериммунизация овец без «Иммунофана» (контроль).

**Гипериммунизация овец с «Иммунофаном».

П р и м е ч а н и е. В таблице указаны обратные величины разведения сывороток.

Заключение

Разработана эффективная схема иммунизации овец хламидийным антигеном с применением иммуностимулятора «Иммунофан», которая позволила повысить активность гипериммунных сывороток, сократить длительность курса иммунизации и увеличить количество крововзятий без дополнительного введения антигена.

Схема иммунизации овец хламидийным антигеном с применением иммуностимулятора «Иммунофан» включена в технологический процесс изготовления иммунной хламидийной сыворотки – компонента наборов (тест-систем) для диагностики хламидиоза животных в РСК, РДСК и ИФА. Технологический процесс является этапом (ТПЗ) технологии изготовления наборов (тест-систем) для диагностики хламидиоза сельскохозяйственных животных в РСК и РДСК и ИФА для диагностики хламидиоза овец и крупного рогатого скота [3].

Литература

1. Жарникова, И. В. Методологические подходы и разработка биотехнологии иммунобиологических препаратов для диагностики инфекционных особо опасных заболеваний и детекции их возбудителей : дис. ... д-ра биол. наук : 03.01.06 / Жарникова Ирина Викторовна. – Ставрополь, 2004. – С. 35–36.
2. Инструкция по применению лекарственного средства «Иммунофан» для коррекции иммунодефицитных состояний у животных и птиц (организация-производитель ООО НПП «БИОНОКС», г. Москва), утв. зам. руководителя Россельхознадзора Е. А. Непоклоновым, 08.2006.
3. Люлькова, Л. С. Промышленная технология изготовления наборов (тест-систем) для диагностики хламидиоза животных (РСК, ИФА) и ИНАН лошадей (РДП, ИФА) : дис. ... д-ра биол. наук : 03.01.06 / Люлькова Лариса Сергеевна. – Щёлково, 2013. – 403 с.
4. Самуйленко, А. Я. Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов / А. Я. Самуйленко, Е. А. Рубан. – М. : РАСХН, 2000. – Т. 1–2.

Поступила 30.06.2017 г.

УДК 619:578.017.8

**П. А. Красочко¹, Н. И. Костюк², И. А. Красочко²,
З. А. Антонова³, Д. С. Борисовец², И. И. Стрельчени²**

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ, МАКРО- И МИКРО- ЭЛЕМЕНТОВ В РОСТОВЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

*¹УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия
ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь*

*²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
имени С. Н. Вышеслесского», г. Минск, Беларусь*

*³Научно-исследовательский институт физико-химических проблем
Белорусского государственного университета, г. Минск, Беларусь*

Введение

В современных условиях отмечено существенное увеличение роли вирусных инфекций в патологии сельскохозяйственных животных. В этой связи одним из наиболее эффективных средств борьбы с ними является специфическая профилактика с использованием живых и инактивированных культуральных вирус-вакцин. В биотехнологическом производстве противовирусных вакцин одним из основных компонентов при их изготовлении является использование культур клеток. Использование клеточных культур играет важную роль для накопления вирусов с целью изготовления противовирусных вакцин [1, 3, 6]. Клеточные культуры нуждаются в большом числе факторов роста. Для биосинтетической деятельности клеток животных в культуре необходимо присутствие заменимых и незаменимых аминокислот, водорастворимых витаминов, углеводов, минеральных веществ и т. д. Наличие этих веществ

в питательной среде обеспечивает пластические и энергетические потребности клеток животных, необходимые для поддержания их жизнедеятельности и размножения. Следовательно, основное условие успешного проведения технологического процесса культивирования клеток – подбор питательных сред, обеспечивающих максимальное накопление целевого продукта. Для выращивания культур клеток применяют питательные среды, имеющие сложный состав. Они komponуются из высококачественного дорогостоящего сырья с последующим внесением питательных и ростовых добавок.

Процесс культивирования монослойных культур клеток для дальнейшего их заражения вакцинным вирусом проводится до момента формирования сплошного монослоя клеток на поверхности культуральных матрасов и роллеров, после чего отработанная питательная среда сливается, заменяется на поддерживающую и утилизируется в достаточно больших объемах как отходы производства. При этом утилизируемая питательная среда кроме продуктов метаболизма клеток содержит в своем составе в достаточном количестве неиспользованные клетками в процессе роста и размножения заменимые и незаменимые аминокислоты, углеводы, минеральные вещества, витамины и т. д. [1, 2, 4–6].

Цель исследований – изучить потребление белков, микро- и макроэлементов в питательных средах после выращивания на них перевиваемых культур клеток.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в условиях отделов вирусных инфекций, культур клеток и питательных сред РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского». Для их осуществления были отобраны образцы ростовых питательных сред до и после культивирования перевиваемых культур клеток (табл. 1).

В процессе работы исследовали ростовые среды до внесения на монослой и среды после получения сформированного монослоя на 3–4-е сутки культивирования.

Таблица 1. Ростовые питательные среды до и после культивирования перевиваемых культур клеток

1	Питательная среда Игла DMEM C-28 от 28.11.2016 г.	→	Ростовая среда к. кл. Магс-145 (Игла DMEM) 2-е сутки от 29.04.2016 г.
2	Питательная среда Игла MEM C-9 от 18.05. 2016 г.	→	Ростовая среда к. кл. MDBK 3-е сутки
3	Питательная среда Игла MEM+199 (НИИ имени Чумакова)	→	Ростовая среда к. кл. СПЭВ (Игла MEM + 199 (НИИ имени Чумакова) (чум.) 7-е сутки от 29.04.2016 г.
4	Питательная среда ФГМС+Игла DMEM C-5 от 17.05.2016 г.	→	Ростовая среда к. кл. ЗКГ (ФГМС + Игла DMEM) 2-е сутки от 29.04.2016 г.
5	Питательная среда ФГМС+Игла DMEM C-5 от 17.05.2016 г.	→	Ростовая среда к. кл. ВНК 21/13 (ФГМС + Игла DMEM) 5-е сутки от 29.04.2016 г.

Исследования по изучению обмена белков ростовых питательных сред до и после культивирования монослойных культур клеток с высоким и низким уровнем метаболизма проводили путем определения содержания общего белка рефрактометрическим методом (рефрактометр – УРЛ-1), который основан на определении показателя (коэффициента) преломления исследуемого вещества – отношения синуса угла падения луча света к синусу угла его преломления.

Массовую долю микро- и макроэлементов в ростовых питательных средах определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии на спектрометре с индуктивно связанной плазмой – ICP ActivaM (HORIBA Jobin Yvon SAS, Франция). Данный метод основан на возбуждении атомов исследуемой пробы в индуктивно связанной плазме, а также на измерении интенсивности аналитической спектральной линии определяемого элемента при распылении анализируемой пробы и подаче в виде аэрозоля в индуктивно связанную плазму.

Ростовые питательные среды исследовали на наличие таких микро- и макроэлементов, как железо, калий, натрий, магний и кальций.

При проведении анализа отобранные пробы ростовых питательных сред предварительно разбавляли в 10,0 раз для того, чтобы обеспечить надлежащее введение аэрозоля в плазму.

При выполнении измерений последовательно вводили в плазму образцы для градуировки и измеряли интенсивности аналитической линии определяемого элемента за вычетом фона (интенсивности излучения спектра рядом с аналитической линией определяемого элемента). Для анализа ростовых питательных сред в плазму последовательно вводили растворы контрольного опыта и анализируемых проб, предварительно разбавленных бидистиллированной водой. На контрольном образце проводили процедуру поиска пиков для определяемого элемента. Далее измеряли интенсивности аналитической линии элементов (Fe, K, Na, Mg, Ca) (за вычетом фона) в контрольном образце и анализируемых пробах. Для каждого раствора выполняли по три измерения и вычисляли среднее значение. Содержание микро- и макроэлементов в образце устанавливали с помощью градуировочного графика.

Градуировочную зависимость получали в координатах: среднее значение интенсивности – массовая концентрация определяемого элемента в образце для градуировки. Для калибровки использовали стандартный образец ICP на 24 элемента концентрацией 1000 ppm. Градуировочную зависимость строили для диапазона концентраций элементов от 0,1 до 100 ppm. Непосредственное содержание элементов в анализируемом препарате вычисляли по формуле

$$C = C_x \cdot 10,$$

где C – концентрация ионов элементов в препарате, мг/дм³, соответствующая содержанию в мкг/см³; C_x – концентрация ионов элементов, найденная из градуировочной зависимости, мг/дм³; 10 – кратность разбавления.

За результат измерений принимали среднее арифметическое значение результатов четырех параллельных определений.

Содержание микро- и макроэлементов изучали методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии.

Результаты и их обсуждение

Результаты проведенных исследований по изучению обмена белков ростовых питательных сред до и после культивирования монослойных культур клеток с высоким и низким уровнем метаболизма представлены в табл. 2, анализируя данные которой, необходимо отметить снижение количества общего белка в ростовых питательных средах после культивирования монослойных культур клеток во всех испытуемых образцах в зависимости от сроков культивирования клеточной линии. Так, содержание общего белка в среде Игла MEM + 199 уменьшается на 18,6 % через 7 суток культивирования линии клеток СПЭВ, среда ФГМС + Игла DMEM (к. кл. ЗКГ) – на 7,04 % на 2-е сутки культивирования, ФГМС + Игла DMEM (к. кл. ВНК 21/13) – на 14,3 % к 5-м суткам, ростовая среда Игла MEM – на 9,67 % на 3-и сутки, питательная среда Игла DMEM – на 7,14 % на 2-е сутки культивирования.

Таблица 2. Уровень общего белка в ростовых питательных средах до и после культивирования монослойных культур клеток с высоким и низким уровнем метаболизма

Ростовые питательные среды	Общий белок, г/л	
	до культивирования	после культивирования
Игла MEM + 199 (к. кл. СПЭВ)	7,0	5,7
ФГМС + Игла DMEM (к. кл. ЗКГ)	7,1	6,6
ФГМС + Игла DMEM (к. кл. ВНК 21/13)	6,3	5,4
Игла MEM (к. кл. MDBK)	6,2	5,6
Игла DMEM (к. кл. Marc-145)	7,0	6,5

Результаты проведенных исследований по изучению массовой доли микро- и макроэлементов в ростовых питательных средах представлены в табл. 3. Анализируя содержание микро- и макроэлементов в ростовых питательных средах, следует отметить незначительное снижение уровня железа после культивирования монослойных культур клеток во всех исследуемых образцах, за исключением ФГМС + Игла DMEM, в которой данный показатель через 2 суток культивирования культуры клеток ЗКГ снижается практически в 9,0 раз. Наиболее выраженные колебания уровня калия наблюдаются в среде ФГМС + Игла DMEM на 5-е сутки культивирования культуры клеток ВНК 21/13, где его количество повышается до 53,16 % в сравнении с первоначальным уровнем.

Таблица 3. Содержание микро- и макроэлементов в ростовых питательных средах до и после культивирования монослойных культур клеток

Элемент	Концентрация, мг/л									
	Игла MEM + 199 (к. кл. СПЭВ)		ФГМС + Игла DMEM (к. кл. ЗКГ)		ФГМС + Игла DMEM (к. кл. ВНК 21/13)		Игла MEM (к. кл. MDBK)		Игла DMEM (к. кл. Marc-145)	
	до	после	до	после	до	после	до	после	до	после
Fe	18,1	18,1	18,3	2,04	18,3	18,1	18,2	18,0	18,0	18,2
K	323,4	318,6	251,2	222,9	341,4	222,9	337,2	327,0	340,1	316,7
Na	4324	4076	4289	614,59	4289	4026	4316	4209	3919	3733
Mg	35,8	34,9	41,5	70,11	44,0	41,5	39,0	38,6	42,6	38,1
Ca	101,1	90,0	113,5	71,24	137,3	113,5	125,4	121,7	141,9	131,1

Выводы

1. Культивирование монослойных культур клеток с высоким и низким уровнем метаболизма в течение 2–7 суток приводит к уменьшению содержания в ростовых питательных средах уровня общего белка на 7,04–18,60 %.

2. Содержание микро- и макроэлементов в ростовых питательных средах в процессе культивирования перевиваемых линий клеток подвергается незначительным колебаниям в пределах 1,0–17,0 %, за исключением среды ФГМС + Игла DMEM (культура клеток ЗКГ), где отмечается снижение содержания железа – в 9,0 раз, натрия – в 7,0 раз, Са – на 37,2 %.

Литература

1. Биологические препараты для профилактики вирусных заболеваний животных: разработка и производство в Беларуси / П. А. Красочко [и др.] ; под ред. Н. А. Ковалева. – Минск : Беларуская навука, 2016. – 492 с.
2. Блажевич, О. В. Культивирование клеток : курс лекций / О. В. Блажевич. – Минск : БГУ, 2004. – 78 с.
3. Дитченко, Т. И. Культура клеток, тканей и органов растений : метод. рекомендации для занятий студентов / Т. И. Дитченко. – Минск : БГУ, 2007. – 46 с.
4. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии) / под. общ. ред. проф. Л. П. Дьяконова. – М. : «Спутник+», 2009. – 656 с.
5. Ковалев, Н. А. Вирусы и прионы в патологии животных и человека / Н. А. Ковалев, П. А. Красочко. – Минск : Беларуская навука, 2012. – 426 с.
6. Фрешни, Р. Я. Культура животных клеток : практ. руководство / Р. Я. Фрешни ; пер. 5-го англ. изд. – М. : БИНОМ, Лаборатория знаний, 2014. – 691 с.

Поступила 10.07.2017 г.

**П. А. Красочко¹, Д. С. Борисовец², Т. А. Зуйкевич²,
Т. М. Прокопенкова², Л. Н. Кашпар¹**

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ МИКРОНОСИТЕЛЕЙ
НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ
НА ПЕРЕВИВАЕМЫЕ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ЖИВОТНЫХ**

*¹УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия
ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь*

*²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышеселеского»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Для накопления вирусов с целью их дальнейшего изучения наиболее удобную систему представляют культуры клеток. Успехи в области вирусологии, достигнутые с помощью тканевых культур, явились мощным стимулом их развития до современного уровня. Культивирование вирусов помогает решить ряд теоретических проблем, связанных с изучением особенностей взаимодействия «вирус–клетка» [1, 2].

В настоящее время живые и инактивированные противовирусные вакцины широко применяют в ветеринарной практике для поддержания благополучия сельскохозяйственных животных по инфекционным заболеваниям. В данный момент в Республике Беларусь потребности животноводческой отрасли в вирусных вакцинах превышают возможности действующих производств [1, 2].

Технология выращивания вакцинных вирусов, включающая культивирование различных субстратзависимых линий клеток MDBK, СПЭВ, ПТ, Vero, MARC-145 и других в монослое на поверхности матрасов и роллерных флаконов является основным ограничивающим фактором объема производства данных биопрепаратов [2].

Многолетний опыт показывает, что при использовании однослойных стационарных культур встречается ряд трудностей, связанных с огромными затратами рабочего времени и материалов. С этой точки зрения более выгодны роллерные культуры, которые экономичны, характеризуются оптимальным отношением полезной площади культивирования к объему питательной среды и открывают благоприятные возможности для накопления клеточной массы. Метод суспензионного культивирования привлекает внимание исследователей в связи с его высокой эффективностью при накоплении больших количеств клеток. В этих условиях клетки размножаются, не прикрепляясь к стенкам культурального сосуда, находясь в суспензионном состоянии, благодаря постоянному перемешиванию среды. Использование преимуществ этого метода невозможно без создания основы будущей суспензии, т. е. микроносителей [3, 4].

В зависимости от источника происхождения материалы могут быть условно разделены на две группы, названные далее синтетическими и природными полимерами. Первоначально в качестве материалов для микроносителей были опробованы полимеры из поливинилпирролидона, полиакрилонитрила, пористого силикагеля, полистирола, капрона, нейлона, алюмосиликатов и боросиликатов, а также их комбинаций. И хотя микроносители, полученные из синтетических полимеров обладали удовлетворительными химическими и механическими свойствами, их суммарной поверхности было недостаточно для полноценного прикрепления и размножения клеток. Именно поэтому на современном этапе развития в качестве микроносителей преимущественно используют природные полимеры, обладающие хорошей биосовместимостью с живой клеткой, малой стоимостью, масштабируемостью и экологичностью получения. К их числу относятся коллаген, целлюлоза, хитин, альгиновая кислота, декстран, а также их производные [4, 5].

Исходя из вышеизложенного, в настоящее время актуальной задачей является разработка и внедрение технологии изготовления микроносителей на основе модифицированных полисахаридов для псевдосуспензионного культивирования культур клеток и производства противовирусных вакцин для сельскохозяйственных животных.

Цель исследования – изучить влияние микроносителей на основе модифицированных полисахаридов на перевиваемую культуру клеток животных.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в условиях отдела вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского», лаборатории катализа полимеризационных процессов Учреждения Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем» и кафедры эпизоотологии УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины».

При проведении исследований нами были выбраны следующие виды целлюлоз, использованных в качестве микроносителей: аморфизованная, хлопковая микрокристаллическая, древесная микрокристаллическая и гранулированная гидроксилсодержащая.

Для оценки влияния микроносителей на перевиваемую культуру клеток животных изучали такие показатели, как токсичность, адгезивная активность, динамика прикрепления, срок формирования монослоя и переживания на нем клеток. В работе использовали общепринятые в вирусологической практике оборудование, материалы и питательные среды.

Результаты и их обсуждение

В работе использовали перевиваемую культуру клеток MDBK.

Для приготовления суспензии аморфизованной целлюлозы, хлопковой микрокристаллической целлюлозы, древесной микрокристаллической целлюлозы

и гранулированной гидроксилсодержащей целлюлозы, использованных в дальнейшей работе как микроноситель, провели следующие этапы: приготовление суспензии различных видов целлюлозы, для чего проводили ее замачивание в стерильной дистиллированной воде (до 5,0 % целлюлозы); 4–5-кратное отмывание аморфизованной целлюлозы, хлопковой микрокристаллической целлюлозы, древесной микрокристаллической целлюлозы и гранулированной гидроксилсодержащей целлюлозы от остатков химических реагентов, которые были использованы при ее изготовлении; автоклавирование полученной суспензии на дистиллированной воде при 1,5–2,0 атмосферах (115–120 °С) в течение 1 ч; двухкратное отмывание целлюлозы раствором Хэнкса (для придания суспензии изотоничности).

Для изучения влияния вышеназванных видов целлюлозы использован сформированный монослой культуры клеток MDBK на матрасах объемом 100 мл в количестве 13 шт. (по 3 шт. на каждый вид целлюлозы и 1 шт. – контроль). В каждый матрас внесена суспензия изучаемого вида целлюлозы до 1,0 % конечной концентрации. В результате наблюдения в течение 5 суток не установлено отрицательных последствий влияния различных видов целлюлозы на клеточный монослой. При добавлении к клеткам 0,2 %-го трипанового синего окрашивания клеток не выявлено, т. е. все клетки оставались в жизнеспособном состоянии.

Для оценки влияния различных видов целлюлозы изучена возможность использования суспензионного и роллерного культивирования перевиваемых клеток с микроносителями. Для суспензионного культивирования использована магнитная мешалка, обеспечивающая скорость перемешивания до 100 об/мин, на роллерах – установка, обеспечивающая скорость движения до 100 об/мин. При установлении магнита 30–40 об/мин отмечено осаждение суспензии целлюлозы на дно и по краям колбы. При увеличении оборотов до 100 об/мин целлюлоза находилась во взвеси. При микроскопировании клетки не прикреплялись к носителям и до 70,0–80,0 % из них были мертвы, что подтверждено тестом с 0,2 %-ным трипановым синим.

При отработке параметров роллерного культивирования при микроскопировании флаконов, куда вносился 1,0 % суспензии целлюлозы, отмечено полноценное формирование монослоя на поверхности роллерного флакона. Кроме того, на 50,0–60,0 % частиц целлюлозы отмечено прикрепление (адгезия) клеток и их рост в виде «ежиков». При использовании теста с трипановым синим клетки были жизнеспособны на 85,0–95,0 %. Характерно, что повышение концентрации целлюлозы до 2,5 % снижало формирование монослоя на поверхности роллерного флакона.

Для оценки переживания перевиваемых клеток на микроносителях при роллерном культивировании изучение проводили путем ежедневного наблюдения в течение 10 суток. В таблице приведены результаты оценки переживания перевиваемых клеток на микроносителях при роллерном культивировании. Они свидетельствуют о том, что различные виды целлюлозы – аморфизованная

целлюлоза, хлопковая микрокристаллическая целлюлоза, древесная микрокристаллическая целлюлоза, гранулированная гидроксилсодержащая целлюлоза – не обладают токсичностью в отношении культур клеток, имеют высокую адгезивную активность, способствуют формированию монослоя клеток как на поверхности роллерного флакона, так и на поверхности микроносителя, сохраняя эти свойства до 7 суток.

Результаты оценки переживания перевиваемых клеток на микроносителях при роллерном культивировании

Сутки наблюдения	Состояние монослоя в зависимости от вида микроносителя				
	Аморфизованная целлюлоза	Хлопковая микрокристаллическая целлюлоза	Древесная микрокристаллическая целлюлоза	Гранулированная гидроксилсодержащая целлюлоза	Без микроносителя (контроль)
1-е	Монослой сформирован на стекле на 30,0 % и на поверхности микроносителя на 30–40 %	Монослой сформирован на стекле на 30 % и на поверхности микроносителя на 20–30 %	Монослой сформирован на стекле на 30 % и на поверхности микроносителя на 35–40 %	Монослой сформирован на стекле на 30% и на поверхности микроносителя на 30–40 %	Монослой сформирован на стекле на 30 %
3–7-е	Монослой сформирован на стекле на 100 % и на поверхности микроносителя на 90–95 %				Монослой сформирован на стекле на 100 %
8-е	Монослой сформирован на стекле на 100 % и без видимых изменений; на поверхности микроносителя клетки набухшие, начинают отслаиваться от микроносителя				Монослой без видимых изменений
9–10-е	Монослой отслоился на 50–60 % от поверхности стекла; на поверхности микроносителя клетки набухшие, отслоились на 60–80 %				Монослой отслоился на 50–60 % от поверхности стекла

Заключение

Проведена оценка влияния микроносителей на основе модифицированных полисахаридов (аморфизованной целлюлозы, хлопковой микрокристаллической целлюлозы, древесной микрокристаллической целлюлозы, гранулированной гидроксилсодержащей целлюлозы) на перевиваемую культуру клеток животных (токсичность, адгезивную активность, динамику прикрепления, сроков формирования монослоя и переживания на нем клеток).

Литература

1. Ковалев, Н. А. Вирусы и прионы в патологии человека и животных / Н. А. Ковалев, П. А. Красочко. – Минск : Беларуская навука, 2012. – 426 с.
2. Биологические препараты для профилактики вирусных заболеваний животных: разработка и производство в Беларуси / П. А. Красочко [и др.] ; под ред. Н. А. Ковалева. – Минск : Беларуская навука, 2016. – 492 с.

3. Блажевич, О. В. Культивирование клеток : курс лекций / О. В. Блажевич. – Минск : БГУ, 2004. – 78 с.

4. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии) / под общ. ред. проф. Л. П. Дьяконова. – М. : «Спутник+», 2009. – 656 с.

5. Дитченко, Т. И. Культура клеток, тканей и органов растений: метод. рекомендации для занятий студентов / Т. И. Дитченко. – Минск : БГУ, 2007. – 46 с.

Поступила 10.07.2017 г.

УДК 57.085.26

Н. И. Костюк, И. И. Стрельченя, Н. В. Кныш, А. Н. Бурко, Е. С. Ткалич

ВОССТАНОВЛЕНИЕ КЛЕТОК ПЕРЕВИВАЕМОЙ ЛИНИИ 3 КГ ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВАЦИИ

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелецкого»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Культура клеток с каждым годом находит все большее применение в самых разнообразных областях биологии, медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве. Ее используют при решении различных общебиологических проблем.

При работе с перевиваемыми клеточными культурами клеточные линии поддерживаются или приобретаются при необходимости. Будучи уникальной, перевиваемая клеточная линия не может быть воспроизведена или замещена. В лучшем случае замещение является дорогостоящей и требующей времени процедурой, поэтому существенным моментом работы с культурой клеток является предупреждение потери клеточных линий путем их консервации [1].

Наиболее эффективным методом, обеспечивающим долгосрочное хранение клеточных линий, является криоконсервирование и хранение клеточных суспензий в жидком азоте. Сегодня актуальным остается вопрос оптимизации условий криоконсервации и восстановления клеток животных и человека после оттаивания с максимальным процентом жизнеспособности [4].

Оптимальное замораживание клеток для сохранения максимальной жизнеспособности при восстановлении после размораживания зависит от минимизации образования внутриклеточных кристаллов льда, а также предотвращения образования очагов высокой концентрации солей, возникающих при замораживании внутриклеточной воды, что достигается путем:

- медленного замораживания, позволяя воде покинуть клетку, но не настолько медленно, чтобы спровоцировать рост ледяных кристаллов;
- использования криопротекторов для уменьшения содержания воды;
- хранения клеток при самой низкой температуре;

– быстрого размораживания, для того чтобы максимально снизить рост кристаллов льда и появление градиента солей, образующегося в процессе таяния остаточного внутриклеточного льда [3].

Способность клеток к выживанию в цикле замораживания–оттаивания зависит не только от влияния защитных сред и температурных режимов при криовоздействиях, но и от подготовки клеток перед замораживанием, концентрации клеток перед замораживанием, а также от условий внешней среды после замораживания [2].

Цель работы – изучить восстановление перевиваемой линии клеток 3 КГ после замораживания.

Материалы и методы исследований

Работа выполнена в отделе культур клеток и питательных сред РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского».

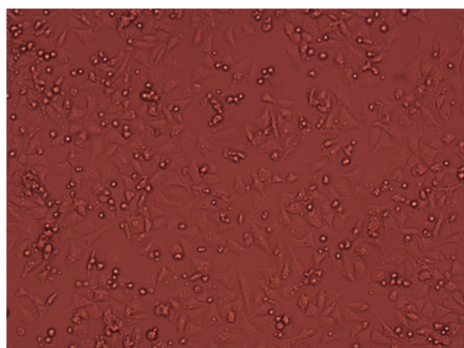
Для изучения восстановления клеточной линии после заморозки мы использовали перевиваемую культуру клеток 3 КГ (гонады козы), которую замораживали в концентрации $2,2 \cdot 10^6$, используя ростовую питательную среду ФМГ-С:ДМЕМ в соотношении 3:1 с сывороткой крови крупного рогатого скота (КРС). В качестве криопротектора применяли ДМСО (20,0 %). К полученной суспензии клеток добавляли дробными порциями ДМСО, по каплям, постоянно перемешивая суспензию клеток, доводя содержание криопротектора до конечной концентрации 10,0 % в течение 5–7 мин. Подготовленную таким образом суспензию клеток 3 КГ переносили в стерильные криопробирки и тщательно закупоривали. Время эквilibрации клеток с криопротектором при комнатной температуре составляло не более 15 мин. Криопробирки с суспензией клеток на 30 мин помещали в холодильник при температуре +4 °С, после чего переносили их на 1 ч в температуру –20 °С, затем на 2 ч – в морозильник при температуре –86 °С, а после этого криопробирки – в жидкий азот.

Отогрев замороженных образцов проводили в водяной бане с температурой +37 °С, постоянно перемешивая до полной разморозки клеток.

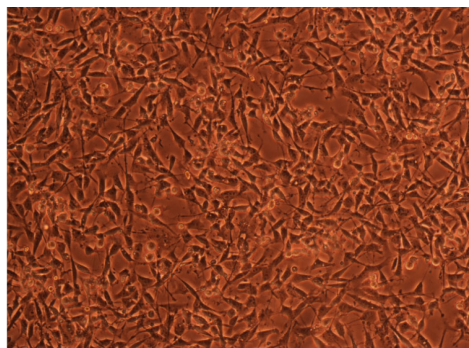
Культивирование клеток 3 КГ проводили монослойно при температуре $+37 \pm 0,5$ °С. Культуру клеток выращивали в пластиковых культуральных флаконах объемом 75 см², для чего использовали ростовую питательную среду ФМГ-С:ДМЕМ (3:1) с добавлением 10,0 %-ной сыворотки КРС и антибиотиков (канамицина сульфата, стрептомицина сульфата и бензилпенициллина натриевой соли) по 100 ед/мл. Смену среды проводили через 24 ч после размораживания. Во время исследований определяли жизнеспособность и начальную адгезию перевиваемой линии 3 КГ, скорость и качество формирования монослоя на 1-е, 2-е, 3-и, 4-е, 5-е сутки визуальным и с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100 в фазовом контрасте (объектив, $\times 10$).

Результаты и их обсуждение

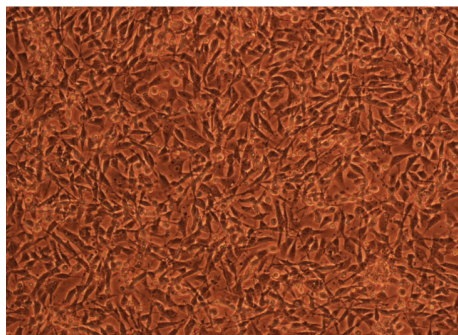
На 1-е сутки после посева наблюдалось прикрепление и слабое увеличение клеток (см. фото, *а*). При просмотре культуральных флаконов под микроскопом установлено, что монослой составил 33,0 %. На 2-е сутки количество клеток удвоилось (см. фото, *б*). При просмотре культуральных флаконов под микроскопом установлено, что клеточный монослой составил 64,0 %. На 3-и сутки деление клеток продолжилось (см. фото, *в*). При просмотре под микроскопом



а



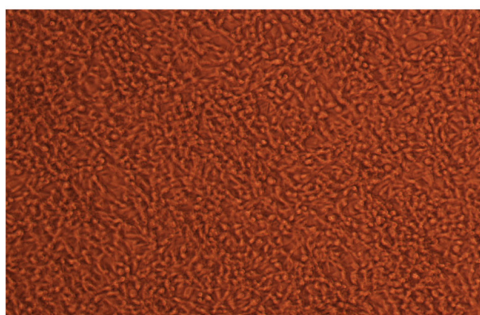
б



в



г



д

Перевиваемая культура клеток 3 КГ. Клеточный монослой на 1-е (*а*), 2-е (*б*), 3-и (*в*), 4-е (*г*), 5-е (*д*) сутки культивирования. Объектив, $\times 10$

выявлено, что клеточный монослой составил 95,0 %. При просмотре культуральных флаконов под микроскопом на 4-е и 5-е сутки наблюдался 100,0 %-ный клеточный монослой (см. фото, з, д). При этом на 5-е сутки клеточный монослой был более плотный. Перевиваемая клеточная линия 3 КГ имела типичную для данной линии морфологию и сохраняла стабильность биологических свойств в течение срока культивирования.

Таким образом, на 5-е сутки скорость роста культуры клеток 3 КГ замедлилась, а количество клеток в культуре достигло насыщения (конечная плотность клеток). Культивируемые клетки полностью покрыли поверхность культурального флакона.

Заключение

Оптимальные результаты восстановления культуры клеток 3 КГ в цикле замораживания—оттаивания были достигнуты при использовании ростовой питательной среды ФМГ-С:ДМЕМ в соотношении 3:1 и концентрации клеток $2,2 \cdot 10^6$. При данных условиях и выбранном нами методе замораживания исследуемая культура клеток 3 КГ была полностью восстановлена к 5-му дню культивирования и имела типичную для данной линии морфологию.

Литература

1. Блажевич, О. В. Культивирование клеток : курс лекций / О. В. Блажевич. – Минск : БГУ, 2004. – 78 с.
2. Горохова, Н. А. Кріоконсервування культивованих фібробластоподібних клітин шляхом повільного заморожування і вітрифікації: автореф. дис. ... канд. біол. наук : 03.00.19 / Н. А. Горохова. – Харків : Ін-т проблем кріобіології та кріомедицини Нац. акад. наук України, 2008. – 26 с.
3. Фрешни, Р. Я. Культура животных клеток : практ. руководство / Р. Я. Фрешни ; пер. 5-го англ. изд. – М. : БИНОМ, Лаборатория знаний. – 2014. – 691 с.
4. Фуллер, Б. Криоконсервирование для создания банка клеток: современные концепции на рубеже XXI столетия / Б. Фуллер, К. Грин, В. И. Грищенко // Проблемы криобиологии. – 2003. – № 2. – С. 62–83.

Поступила 27.06.2017 г.

**Н. И. Костюк, И. И. Стрельчя, Н. В. Кныш,
С. В. Великий, Д. О. Шпилевский**

**ПРИМЕНЕНИЕ ПЕРЕВИВАЕМОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ВНК-21
ДЛЯ СРАВНИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗА РОСТСТимулирующей
АКТИВНОСТИ СЫВОРОТОК КРОВИ**

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
имени С. Н. Вышесесского», г. Минск, Беларусь*

Введение

Культуру клеток используют при решении различных общебиологических проблем. Важную роль тканевые культуры играют в биотехнологии при производстве вакцин, биологически активных веществ. Также они являются исходным материалом для создания клеток-репродукторов, используются в целях повышения продуктивности сельскохозяйственных животных и для выведения новых сортов растений. Клеточные культуры применяются для диагностики и лечения наследственных заболеваний, в качестве тест-объектов при испытании новых фармакологических веществ, а также для сохранения генофонда исчезающих видов животных и растений [4].

Известны многочисленные попытки вырастить клетки на синтетических (бессывороточных) питательных средах, но подавляющее большинство клеток способно к пролиферации только в среде с сывороткой крови. В состав сыворотки крови входят факторы роста, которые помогают клеточной пролиферации, а также факторы адгезии вещества, обладающие антитрипсиновой активностью, способствующие прикреплению клеток. Сыворотка также является источником минеральных веществ, липидов и гормонов, белков, которые не только являются переносчиками минеральных соединений и жирных кислот, но и выполняют другие функции [2].

Для клеточных культур используют телячью сыворотку, эмбриональную бычью сыворотку, сыворотку взрослого крупного рогатого скота (КРС) и лошадей. Эмбриональная сыворотка и сыворотка КРС используются наиболее широко. Сыворотку крови получают из крови клинически здоровых животных, благополучных по инфекционным заболеваниям.

В продаже имеются различные виды сывороток. При этом разные партии сыворотки могут значительно отличаться по своим свойствам. Эти различия зависят от методов приготовления и стерилизации сыворотки, ее срока и условий хранения, а также от породы и рациона питания животных, у которых берут сыворотку, от климата, в котором их выращивают. Важно выбрать серию сыворотки и использовать ее как можно дольше, а со временем заменить ее на максимально сходную по свойствам [1].

Известно, что большая часть клеток лучше растет в присутствии эмбриональной сыворотки крови, которая является очень дорогостоящей и экономически не выгодной. Получение эмбриональной сыворотки, ее обработка и стерилизация представляют собой довольно сложные операции, требующие применения специальной аппаратуры [3]. В связи с этим остается актуальным вопрос о культивировании клеток с использованием сыворотки крови собственного производства.

Цель работы – провести сравнительный анализ ростстимулирующей активности сыворотки крови КРС собственного производства и эмбриональной сыворотки крови с использованием перевиваемой клеточной линии ВНК-21.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в отделе культур клеток и питательных сред РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского».

Для выращивания перевиваемых клеточных линий использовали сыворотку КРС собственного производства, которую получали от убойных клинически здоровых бычков на ОАО «Витебский мясокомбинат». После тотального обескровливания с соблюдением условий асептики кровь для отстаивания помещали в контейнер и оставляли при температуре +2–4 °С в течение 36–48 ч. Отделившуюся от фибрина сыворотку крови декантировали, отделяли от форменных элементов путем центрифугирования на проточной центрифуге HANIL J-075, фасовали и подвергали стерилизации путем облучения гамма-лучами. Радиационную обработку проводили на гамма-установке УГУ-420 с использованием закрытых радионуклидных источников гамма-излучения кобальт-60 без непосредственного контакта с облучаемой сывороткой. Процесс является экологически чистым.

В качестве тест-культуры использовали перевиваемую культуру клеток ВНК-21 (почка сирийского хомячка). Для исследований из рабочего банка клеток РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» были взяты клетки ВНК-21.

Перевиваемую культуру клеток ВНК-21 выращивали в пластиковых культуральных флаконах объемом 75 см³ при температуре +37,5 ± 0,5 °С.

Нами было проведено три пассажа с тестируемой (опытной) сывороткой крови КРС собственного производства и аналогичное количество пассажей с эмбриональной (контрольной) сывороткой производства Sigma.

Для исследования опытной сыворотки крови КРС перевиваемую культуру клеток ВНК-21 культивировали с ростовой питательной средой ФМГ-С:ДМЕМ (3:1) с добавлением 10,0 %-ной сыворотки крови КРС и антибиотиков (канамицина сульфата, стрептомицина сульфата и бензилпенициллина натриевой соли) по 100 ед/мл. Через 120 ч культивирования проводили последующий пересев клеток после формирования сплошного (100,0 %) монослоя.

Для исследования контрольной сыворотки крови перевиваемую культуру ВНК-21 культивировали на ростовой питательной среде ФМГ-С:ДМЕМ (3:1) с добавлением 10,0 %-ной эмбриональной сыворотки крови и антибиотиков (канамицина сульфата, стрептомицина сульфата и бензилпенициллина натриевой соли) по 100 ед/мл. Через 120 ч культивирования проводили последующий пересев клеток после формирования сплошного (100,0 %) монослоя.

Для снятия клеток со стекла использовали смесь 0,02%-го раствора версена и 0,25%-го раствора трипсина в соотношении 1:9. После удаления питательной среды добавляли 50,0 см³ раствора версен-трипсина, инкубировали в термостате в течение 5–10 мин при температуре $+37,5 \pm 1,0$ °С и наблюдали за ней визуально. Когда начиналось «набухание» и слабое «отслоение» клеточного монослоя сливали смесь версен-трипсина, добавляли ростовую питательную среду ФМГ-С:ДМЕМ (3:1), затем встряхивали ее так, чтобы все клетки отделились от стекла.

Для подсчета количества клеток в камере Горяева отбирали пробу объемом 1,0 см³ и окрашивали 0,1 %-ным раствором трипанового синего. Подсчитывали количество живых (неокрашенных) клеток в камере Горяева при 10-кратном увеличении. Для точности результатов подсчет проводили в трех пробах.

Количество живых клеток из расчета на 1,0 см³ питательной среды определяли по формуле

$$x = \frac{A \cdot 100 \cdot 2}{0,9},$$

где x – количество клеток из расчета на 1,0 см³ питательной среды, относительные единицы; A – среднее арифметическое значение количества клеток трех проб; 1000 – коэффициент пересчета, см³; 2 – коэффициент разведения клеточной культуры красителем; 0,9 – объем счетной камеры Горяева, мм³.

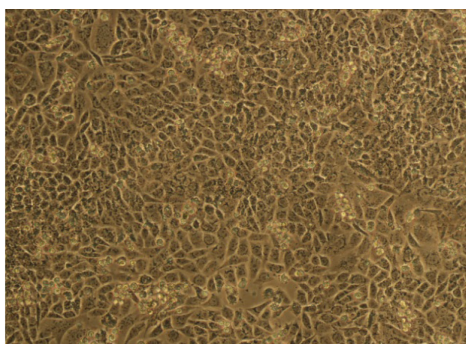
Индекс пролиферации клеток – отношение числа выросших к количеству засеянных клеток, определяли по формуле

$$\text{ИП} = \frac{x}{y},$$

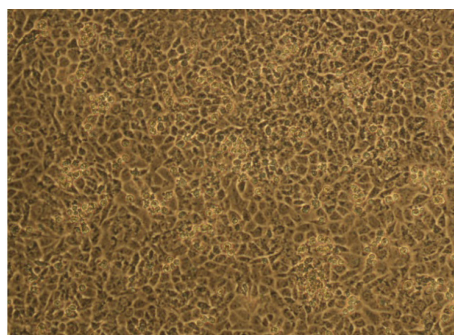
где ИП – индекс пролиферации, относительные единицы; x – количество клеток из расчета на 1,0 см³ питательной среды (или на 1,0 см² рабочей поверхности матраса) после культивирования культуры клеток; y – количество засеянных клеток из расчета на 1,0 см³ питательной среды (или на 1,0 см² рабочей поверхности матраса).

Результаты и их обсуждение

При исследовании трех пассажей с тестируемой (опытной) сывороткой крови КРС собственного производства и с эмбриональной (контрольной) сывороткой производства Sigma было установлено, что опытная сыворотка крови КРС по ростстимулирующей активности для перевиваемой культуры ВНК-21 не уступает контрольной (эмбриональной) сыворотке крови.



а



б

Перевиваемая культура клеток ВНК-21 с использованием сыворотки крови КРС собственного производства (*а*) и эмбриональной сыворотки крови производства Sigma (*б*). Клеточный монослой через 120 ч культивирования. Объектив, $\times 10$

Результаты микроскопического учета клеточного монослоя 3-го пассажа перевиваемой культуры ВНК-21 на 5-е сутки представлены на фото, из которого видно, что через 120 ч культивирования сформировался 100,0 %-ный клеточный монослой, клетки которого имеют типичную для данной линии морфологию, дегенеративные изменения в них отсутствуют.

При этом после подсчета клеток установлено, что индекс пролиферации составил: 1:20 – при использовании сыворотки крови КРС собственного производства; 1:21 – при использовании эмбриональной сыворотки крови производства Sigma.

Таким образом, сыворотка крови КРС собственного производства пригодна для культивирования культуры ВНК-21, так как она обеспечивает образование сплошного монослоя клеток на 4–5-е сутки, не вызывает в тестируемых клетках дегенеративных изменений и обеспечивает высокий индекс пролиферации.

Заключение

Сыворотка крови КРС по ростобеспечивающей способности для перевиваемой культуры ВНК-21 не уступает эмбриональной сыворотке крови и обеспечивает индекс пролиферации 1:20.

Литература

1. Гасанова, Б. С. Культивирование клеток млекопитающих с различными видами сывороток и заменителями сывороток: автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.06 / Б. С. Гасанова. – М., 1993. – 24 с.
2. Михайлова, Г. Р. Изучение ростстимулирующей активности отечественных сывороток различных видов животных / Г. Р. Михайлова, Р. Я. Подчернява // Вопросы вирусологии. – 1990. – № 5. – С. 426–429.
3. Фетальная сыворотка крови крупного рогатого скота / К. С. Хаертынов [и др.] // Ветеринария. – 1990. – № 3. – С. 62–63.
4. Фрешни, Р. Я. Культура животных клеток: практическое руководство / Р. Я. Фрешни ; пер. 5-го англ. изд. – М. : БИНОМ, Лаборатория знаний, 2014. – 691 с.

Поступила 07.07.2017 г.

С. С. Бойко, Е. С. Яценко

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКА НА *BACILLUS SUBTILIS* В ПРОЦЕССЕ СТАЦИОНАРНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Алтайский государственный университет, г. Барнаул, Россия

Введение

В настоящее время биотехнология становится значимым фактором, определяющим развитие таких жизненно важных отраслей, как медицина, пищевая промышленность, фармацевтика, сельское хозяйство, альтернативная энергетика и др. Для сельского хозяйства перспективным направлением исследований является производство кормов с использованием новых биологически активных препаратов: ферментных, пробиотических, пребиотических, комбинированных ферментно-пробиотических, а также комплексных пробиотических препаратов, обогащенных фитокомпонентами.

Комплексные кормовые биопрепараты, получаемые на основе *Bacillus subtilis*, являются востребованными продуктами в сельском хозяйстве. Их производство не требует применения уникального и дорогостоящего оборудования и может быть осуществлено с использованием комплекса стандартных биотехнологических узлов и блоков. Тем не менее продолжающиеся развитие и интенсификация сельского хозяйства требуют поиска и разработки новых технологических приемов, позволяющих повысить продуктивность и экономическую эффективность производства биопрепаратов.

В настоящее время ведутся интенсивные исследования по разработке и изучению эффективности использования в составе кормов пробиотических препаратов на основе спорообразующих бактерий рода *Bacillus* [4].

Ускорение роста и развития *Bacillus subtilis*, на основе которых производятся пробиотики, возможно с помощью физического воздействия. Одним из факторов, способным влиять на микроорганизмы, является ультразвук.

Интерес к изучению влияния ультразвуковых волн на *Bacillus subtilis* обусловлен востребованностью этого вида в промышленности.

Цель исследования – изучить влияние ультразвука на штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-3057 D в процессе стационарного культивирования.

Испытания проводили в лаборатории инжинирингового центра «Промбиотех» АлтГУ.

Материалы и методы исследования

В качестве исходного штамма использовали штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-3057 D.

Исследуемый биологический препарат представляет собой сухой порошок из лиофильно высушенных бактерий штамма *Bacillus subtilis* ВКПМ В-3057 D. Содержание спор бактерий в нем составляет не менее $5 \cdot 10^9$ КОЕ/г.

Для выращивания, поддержания и хранения культуры использовали агаризованную среду следующего состава (г/л): агар-агар – 18, дрожжевой экстракт – 5, пептон – 15, хлорид натрия – 5, дистиллированная вода – до 1 л (рН 6,8–7,0).

Для культивирования использовали вегетативную среду (г/л): дрожжевой экстракт – 5, пептон – 15, хлорид натрия – 5, дистиллированная вода – до 1 л (рН 6,8–7,0).

Готовые среды стерилизовали автоклавированием в течение 30 мин при давлении 1,1 кгс/см².

Воздействие ультразвуком на споры осуществляли при температуре +32 °С, частоте колебаний 37 кГц и мощности 140 Вт.

В качестве контрольной пробы использовали споры штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В-3057 D без воздействия ультразвука.

Исследование проводили в три этапа.

На первом этапе было изучено влияние ультразвука на споры *Bacillus subtilis*. Время воздействия составляло 1, 5, 10, 15, 20 и 30 мин. Для каждой экспозиции использовали пробирки микроцентрифужные (Эппендорфа) объемом 1,5 мл, содержащие 0,1 г спор исследуемого штамма. Из обработанных спор готовили споровую суспензию с вегетативной средой. Культуру выращивали в колбах в шейкер-инкубаторе «Innova 44» (New Brunswick Scientific, США) при 250 об/мин (эксцентриситет 5 см), температуре +37 °С в течение 24 ч [5].

На втором этапе было изучено влияние ультразвука на споры *Bacillus subtilis* в вегетативной среде. Для этого использовали пробирки микроцентрифужные объемом 1 мл, содержащие 0,1 г исследуемых спор и 1 мл вегетативной среды, а также колбы Эрленмейера объемом 50 мл, содержащие 5 г исследуемых спор и 50 мл вегетативной среды. После внесения питательной среды и спор озвучивали полученные суспензии. Время воздействия составляло 1, 5, 10, 15, 20, 25 и 30 мин. После озвучивания микроорганизмы культивировались в течение суток в шейкер-инкубаторе «Innova 44» (New Brunswick Scientific, США) при 250 об/мин (эксцентриситет 5 см), температуре +37 °С, а затем пересевались на чашки Петри с агаризованной средой.

На третьем этапе было исследовано влияние ультразвука на *Bacillus subtilis*. Для этого из спор готовили споровую суспензию: в колбу Эрленмейера объемом 50 мл, содержащую 50 мл вегетативной среды, вносили 5 г спор. Культуру выращивали в колбах в шейкер-инкубаторе «Innova 44» (New Brunswick Scientific, США) при 250 об/мин (эксцентриситет 5 см), температуре +37 °С в течение 24 ч. Изучение влияния ультразвука на штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-3057 D проводили в двух объемах: 1 мл и 50 мл. Вырастившую культуру с вегетативной средой переносили в пробирки микроцентрифужные (Эппендорфа) в объеме 1 мл и в колбу в объеме 50 мл. Время воздействия составляло 1, 5, 10, 15, 20 и 25 мин. После озвучивания микроорганизмы культивировались в течение суток в шейкер-инкубаторе «Innova 44» (New Brunswick

Scientific, США) при 250 об/мин (эксцентриситет 5 см), температуре +37 °С, а затем пересеивались на чашки Петри с агаризированной средой.

Для выявления результата использовали метод посева на питательные среды (чашечный метод). Выживаемость *Bacillus subtilis* определяли по соотношению числа выросших колоний на контрольных чашках и после облучения ультразвуком в течение различных промежутков времени.

Эффективность действия ультразвука (ΔT) в процентах к контролю оценивали по сравнению числа колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл суспензии, выросших на поверхности среды в контроле и опыте.

Величину ΔT рассчитывали по формуле

$$\Delta T = \frac{t_1 - t_0}{t_0} \cdot 100 \%,$$

где t_1 – количество КОЕ в опыте; t_0 – количество КОЕ в контроле.

Результаты и их обсуждение

В ходе исследования было установлено, что при озвучивании в течение 1 мин сухих спор достигается максимальное достоверное стимулирующее действие с $\Delta T = 67,0 \%$.

Также было выявлено стимулирующее действие ультразвука на споры *Bacillus subtilis* в вегетативной среде, однако для разных используемых объемов время озвучивания, при котором происходит увеличение КОЕ по сравнению с отрицательным контролем, различно. Так, для объема 1 мл наибольшее достоверное стимулирование происходит при воздействии ультразвуком в течение 20 мин и $\Delta T = 75,0 \%$, а для объема 50 мл – 5 мин и $\Delta T = 25,0 \%$.

При озвучивании *Bacillus subtilis* отмечено подавление роста бактерий по сравнению с отрицательным контролем и $\Delta T = -60,0 \%$.

Полученные результаты позволяют говорить о различном влиянии ультразвука на споры *Bacillus subtilis* и *Bacillus subtilis*.

Ультразвуковая обработка может приводить как к гибели, так и к стимуляции физиологического состояния клетки и ускорению обмена между клеткой и средой, в которой содержатся все необходимые для нее питательные вещества [3].

Разрыв клеточных мембран и нарушение механической целостности клеток – пожалуй, наиболее очевидное из возможных последствий ультразвукового облучения. При прохождении в среде обитания клеток акустической волны в ней создаются переменные во времени механические напряжения. Если их амплитуда достаточно высока, клетка может просто не выдержать такого сильного воздействия, тогда ее мембрана разорвется [2].

При частоте ультразвука 1 МГц и интенсивности 1 Вт/см² амплитуда смещения в биологических средах $A = 2 \cdot 10^{-6}$ см. При таких условиях каждая клетка периодически испытывает деформацию порядка 10^{-7} см.

При повышении интенсивности ультразвука до значений, когда в среде возникают механические усилия, сравнимые с прочностью клеточных мембран, начинается процесс разрушения клеток. Обычно появление значительных механических возмущений в жидкостях связано с возникновением в них стабильных и нестабильных газовых пузырьков, которые могут образоваться в воде и водных средах, если интенсивность ультразвука превышает порог кавитации. Самого факта появления пульсирующих газовых пузырьков в среде еще недостаточно для разрушения клеток. Эффект наблюдается, если амплитуда пульсаций пузырьков возрастает до определенной величины. Величина эта различна для разных клеток, зависит от их формы и размера, а также прочности цитоплазматической мембраны и наличия цитоскелета [1].

Также среда, в которой распространяется ультразвук, вступает во взаимодействие с проходящей через него энергией и часть ее поглощает. Преобладающая часть поглощенной энергии преобразуется в тепло, меньшая часть вызывает в передающем веществе необратимые структурные изменения.

При распространении ультразвука в жидкой среде возникает переменное давление. Отрицательное давление может привести к образованию полостей (кавитационных пузырьков) в месте разрежения (кавитация). В кавитационных пузырьках появляются новые поверхности, а на них (в результате больших напряжений) – электрические заряды, которые могут способствовать образованию ионов в жидкости. Механическое действие ультразвука обусловлено высокочастотными колебаниями, которые передаются ткани, соприкасающейся с излучателем [2].

Механическая резистентность одноклеточных заметно меняется в зависимости от их величины, формы, особенностей строения, периода в жизненном цикле и т. д.

В первую очередь резистентность клеток к ультразвуку определяется структурой их оболочки, в наибольшей степени подверженной влиянию факторов, действующих в ультразвуковом поле.

К тому же кратковременное действие УЗ способствует механическому разделению скоплений бактериальных клеток, благодаря чему каждая отдельная клетка дает начало новой колонии [1].

Заключение

В ходе работы было изучено влияние ультразвука на штамм *Bacillus subtilis* ВКПМ В-3057 D в процессе стационарного культивирования. Для этого была проведена серия испытаний на сухих спорах, суспензии со спорами и суспензии с *Bacillus subtilis*.

В результате исследований было установлено, что при озвучивании в течение 1 мин сухих спор достигается максимальное достоверное стимулирующее действие. Также было выявлено стимулирующее действие ультразвука на споры *Bacillus subtilis* в вегетативной среде.

При озвучивании *Bacillus subtilis* отмечалось ингибирующее действие ультразвука.

Полученные результаты могут представлять определенный интерес для других исследователей, занимающихся производством биопрепаратов для сельского хозяйства.

Литература

1. Акопян, Б. В. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами / Б. В. Акопян, Ю. А. Ершов. – М. : Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2005. – 224 с.
2. Демин, И. Ю. Современные акустические методы исследований в биологии и медицине : учеб.-метод. материал по программе повышения квалификации «Хранение и обработка информации в биологических системах» / И. Ю. Демин, Н. В. Прончатов-Рубцов. – Нижний Новгород : Изд-во ННГУ, 2007. – 121 с.
3. Изучение влияния ультразвуковой обработки дрожжей на сбраживание яблочного сусла / А. В. Бигаева [и др.] // Сб. материалов конф. : в 6 ч. / под общ. ред. А. А. Тихомирова. – М. : МГУПП, 2016. – Ч. II : Общеуниверситетская научная конференция молодых учёных и специалистов «День Науки». – С. 13–16.
4. Пробиотические препараты для кормопроизводства на основе спорообразующих бактерий рода *Bacillus* / Н. В. Сверчкова [и др.] // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. – Минск, 2012. – Т. 4. – С. 107–119.
5. Разработка высокоактивного штамма-продуцента вирджинииамицина и повышение его продуктивности с помощью синтетических абсорбирующих смол / В. А. Савушкин [и др.] // Біолог. вісн. Мелітопольського держ. пед. ун-ту ім. Богдана Хмельницького, 2016. – Т. 6, № 3. – С. 195–208.

Поступила 31.05.2017 г.

УДК 619:615:37.012

**Л. Б. Соловьев, Л. В. Анисимова, Л. А. Коротева,
И. В. Павленко, Н. В. Маркина**

ИММУНОГЕННАЯ АКТИВНОСТЬ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности», пос. Биокомбината, Щелковский р-н,
Московская обл., Россия*

Введение

Успех специфической профилактики инфекционных болезней животных во многом зависит от качества выпускаемых биопрепаратов, которое определяется свойствами производственных штаммов микроорганизмов, технологией и условиями производства [1].

Свиноводство – один из основных источников производства мяса и жира животного происхождения. На фоне специфических условий и, в частности,

в связи с концентрацией большого количества свиней на ограниченных территориях возросла роль болезней, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами, в том числе бактериями из рода *Salmonella*. Современные средства специфической профилактики, применяемые на ослабленных животных, не всегда оказываются достаточно эффективными [1, 4].

Существующие инаktivированные корпускулярные вакцины обладают высокой реактогенностью, токсичностью и недостаточной иммуногенностью. Живые вакцины, имеющие более высокую иммуногенность, могут вызывать вспышки болезни у привитых животных из-за реверсии вакцинных штаммов в вирулентное состояние при многократных пассажах на ослабленном поголовье с иммунодефицитным состоянием [3, 4].

В научной литературе имеются сведения о проведении работ по созданию вакцин из антигенных комплексов, в частности, по разработке препарата на основе лизат-антигенов для профилактики сальмонеллеза поросят послеотъемного периода [2]. Исследованиями установлено, что применение подобного препарата позволяет получать напряженный специфический иммунитет в более раннем возрасте – заболеваемость и общий отход поросят подсосного периода снижались на 7,0–11,0 %, а сохранность поросят в период дорастивания повышалась на 25,0 % [5].

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в отделе бактериальных препаратов ГНУ ВНИТИБП. В работе использовали аттенуированные штаммы *Salmonella tiphimurium* № 415 и *Salmonella holeraesuis* № 370.

Выращивание сальмонелл осуществляли с использованием ранее разработанной нами питательной среды на основе перевара Хоттингера в лабораторных ферментерах АНКУМ-2М, оснащенных системами автоматического контроля и регулирования основных параметров культивирования (температура, pH, eH и pO₂), по разработанному нами режиму.

В процессе выращивания культуры сальмонелл исследовали по таким показателям, как морфология, культуральные свойства, оптическая плотность.

Для получения лизат-антигенов сальмонелл использовали гидроксиламин солянокислый в качестве дезинтегрирующего агента.

Осаждение антигенов проводили с помощью двузамещенного фосфорнокислого кальция. Для этого использовали реакцию между двузамещенным фосфорнокислым натрием и хлористым кальцием.

Лабораторные испытания экспериментальных образцов вакцин проводили в опытах на кроликах и беспородных белых мышах, производственные испытания – на супоросных свиноматках и поросятах послеотъемного периода.

Для проведения исследований препарат готовили путем смешивания равных объемных количеств антигенов из культур двух штаммов сальмонелл.

В опытах на кроликах определяли оптимальную дозу препарата и его безвредность. Препарат вводили однократно внутримышечно в дозах: 300 млн м. т.

(1-я группа); 3 млрд м. т. (2-я группа); 6 млрд м. т. (3-я группа); 12 млрд м. т. (4-я группа); 24 млрд м. т. (5-я группа); 48 млрд м. т. (6-я группа).

После иммунизации у кроликов не наблюдалось каких-либо изменений клинического статуса, хотя наибольшая доза (48 млрд м. т.) свидетельствовала о безвредности испытуемого препарата.

От иммунизированных кроликов брали кровь через каждые 7 сут. до 49-го дня включительно и в сыворотке крови определяли количество агглютининов в РА к каждому антигену, входящему в состав препарата.

Через 7 сут. после иммунизации наблюдалось повышение титров агглютининов у животных всех шести групп ко всем антигенам.

Нарастание уровня агглютининов продолжалось до 28-го дня. Однако это повышение было более существенным у кроликов со 2-й по 6-ю группы по сравнению с 1-й группой. После этого наметилась тенденция к снижению, и к 49-му дню уровень агглютининов у 1-й группы кроликов был значительно ниже, чем у всех остальных.

Таким образом, установлено, что оптимальной иммунизирующей дозой препарата для кроликов является доза 3 млрд м. т.

Изучение иммуногенной активности препарата проводили в опыте на белых мышах, которым однократно подкожно в область спины вводили двухкомпонентный препарат в дозе 300 млн м. т. на мышшь.

Установлено, что ЛД₅₀ культуры *S. choleraesuis* для иммунизированных мышей составила 80 микробных клеток, а для контрольных – 8 микробных клеток; ЛД₅₀ культуры *S. typhimurium* для опытной группы мышей составила 5000 микробных клеток, тогда как для мышей контрольной группы этот показатель был равен 80 микробным клеткам.

Следовательно, однократная иммунизация мышей препаратом в дозе 300 млн м. т. обеспечивает повышение устойчивости к заражению *S. choleraesuis* в 10,0 раз, а к *S. typhimurium* – в 63,0 раза по сравнению с неиммунизированными животными.

Результаты и их обсуждение

Испытание опытных серий препарата (безвредность, реактогенность и иммуногенность) провели на продуктивных животных (свиноматки и поросята).

Для изучения безвредности препарата 5-ти свиноматкам за 8 дней до опороса и 10-ти поросётам 35-дневного возраста его ввели однократно, внутримышечно в область шеи в дозе 45 млрд м. т. и 9 млрд м. т. соответственно, что составило по три прививочные дозы. За время наблюдения (10 сут.) не были отмечены отклонения в состоянии здоровья – все животные были активны и хорошо поедали корм.

Следовательно, трехкратные дозы препарата 45 млрд м. т. для свиноматок и 9 млрд м. т. для поросят являлись безвредными.

Реактогенность препарата изучали аналогично безвредности, только свиноматкам и поросётам вводили по одной иммунизирующей дозе. Препарат показал свою реактогенность.

При изучении иммуногенной активности препарата установлено, что однократная вакцинация препаратом супоросных свиноматок за 18–20 дней до ожидаемого опороса обеспечивает образование и накопление агглютининов в сыворотке крови и молозиве в высоких титрах, обуславливая колостральный иммунитет против сальмонеллеза у полученных от этих свиноматок поросят.

Колостральный иммунитет против сальмонеллеза у поросят сохраняется до 30–35-дневного возраста, поэтому активную иммунизацию поросят целесообразно проводить в возрасте 30–35 дней. Такая схема иммунизации обеспечивает защиту поросят до 110–120-дневного возраста.

Заключение

Экспериментальная серия препарата при его применении в качестве средств профилактики в низких дозах в условиях неблагополучного хозяйства позволила повысить сохранность в опытных группах поросят на 25,0 % по сравнению с контрольными группами. Эти данные позволяют рассматривать препарат как перспективный для создания высокоиммуногенной и реактогенной вакцины в целях профилактики сальмонеллеза свиней.

Литература

1. Максимович, В. В. Сальмонеллез свиней : автореф. дис. ... д-ра вет. наук / В. В. Максимович ; Белорус. науч.-исслед. ин-т эксперимент. вет. им. Н. Вышелесского. – Минск, 1995. – 36 с.
2. Меньшенин, В. В. Оптимизация условий культивирования сальмонелл с использованием питательных сред на основе перевара Хоттингера / В. В. Меньшенин, Е. Э. Школьников, А. А. Раевский // Ветеринария и кормление. – 2010. – № 5. – С. 8–9.
3. Перспективные направления в технологии культивирования бактерий при производстве вакцин для ветеринарной медицины / А. Я. Самуйленко [и др.] // Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Щёлково, 2005. – С. 298–301.
4. Степанов, В. Резистентность, иммунореактивность и бактерионосительство свиней. Вакцинация против сальмонеллеза / В. Степанов, В. Федюк // Свиноводство. – 1999. – № 3. – С. 17–19.
5. Субботин, В. В. Иммуногенные свойства лизат-антигенов из сальмонелл, эшерихий и стафилококка / В. В. Субботин, М. А. Сидоров // Ветеринария. – 1996. – № 4. – С. 24–27.

Поступила 30.06.2017 г.

С. А. Гринь¹, А. Я. Самуйленко¹, Р. Н. Мельник¹,
А. Н. Андроник¹, В. Н. Боровой², И. Ю. Литенкова³,
И. Н. Матвеева¹, Н. А. Бондарева¹, С. М. Синковец⁴

ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», пос. Биокомбината, Щелковский р-н, Московская обл., Россия

² Департамент ветеринарии Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, г. Москва, Россия

³ ФКП «Щелковский биокомбинат», пос. Биокомбината, Щелковский р-н, Московская обл., Россия

⁴ Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, г. Москва, Россия

Введение

Современная теория иммунитета носит название клонально-селективной: образуется клон В-клеток и наблюдается их селекция, т. е. отбор в конечном счете по антигену (с помощью *t*-хелперов). Авторами этой теории были лауреаты Нобелевской премии Ф. Бернет, Н. Эрне, П. Б. Медвар и другие ученые [1].

Иммунную защиту обеспечивают два механизма: врожденный и адаптивный, которые включают клеточные и гуморальные компоненты и активно взаимодействуют друг с другом в процессе иммунного ответа. Распознавание множества чужеродных антигенов (10^{18}) происходит благодаря огромному разнообразию в нашем организме образующихся в тимусе клонов Т-лимфоцитов и при помощи генов главного комплекса гистосовместимости классов I и II. Нейтрализацию чужого антигена осуществляют циркулирующие в жидкостях организма антитела (гуморальный иммунитет) и цитотоксические лимфоциты (клеточный иммунитет). Основные характеристики иммунного ответа – это умение различать собственные антигены от чужеродных, специфичность и иммунная память [2].

Вне зависимости от формы иммунного ответа его традиционно разделяют на индуктивную и эффективную (продуктивную) фазы. В индуктивную фазу происходит представление антигена, т. е. передача информации об антигене от клеток врожденного иммунитета (антигенпрезентирующих клеток) инициаторам адаптивного иммунитета Т-хелперам. Затем выбирается путь дальнейшего развития иммунного ответа по клеточному или гуморальному пути – через индукцию дифференцировки разновидностей Т-хелперов (Th 1, Th 2, Th 17 и т. д.). При участии этих Т-хелперов происходит дифференцировка эффективных иммуноцитов и параллельно – клеток памяти [3].

Анализ многочисленных публикаций, свидетельствующих о том, что воздействие на ДНК клетки мутагенных факторов (химических, физических и биологических) в конечном счете приводит к изменению ее функции, а под воз-

действием чужого антигена клетки организма вырабатывают новую специфическую продукцию антител [4–21].

Цель работы – провести сравнительный анализ полученных результатов исследования поствакцинального противоящурного иммунитета с учетом репродукции использования уникальных особенностей вируса ящура при его репродукции как *in vivo* – вызывая образование афт на языке крупного рогатого скота при его введении под слизистую оболочку, так и *in vitro* – при культивировании в реакторе на клетках слизистой оболочки языка этих животных.

Материалы и методы исследований

В исследованиях использовали:

- крупный рогатый скот не моложе 18 месяцев, массой не менее 250 кг, выше средней упитанности, доставленный из районов, благополучных относительно ящура, где в последние 2 года не проводилась вакцинация против ящура;
- свиней массой 20–60 кг для получения культур клеток, также из благополучных по ящуру районов;
- вирус ящура (ВЯ);
- вакцины инактивированные, изготовленные из этого ВЯ.

Определение концентрации 146 S – компонента ВЯ проводили методом зонального центрифугирования в градиенте плотности сахарозы. Содержание 146 S – антигена ВЯ выражали в мкг/см³. Авирулентность контролировали на крупном рогатом скоте, у которого отсутствовали противоящурные антитела ВЯ.

Уровень гуморального иммунитета определяли с помощью реакции нейтрализации, используя культуру клеток свинных почек в монослое. Учет реакции производили через 48 ч, показатель титр (ТСН 50 lg) определяли по методу Кербера.

Многолетние исследования биологических свойств ВЯ при производстве противоящурных вакцин позволили получить уникальные данные о разви-

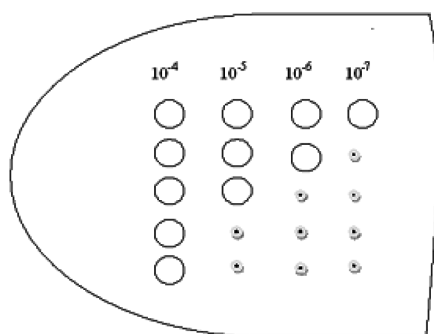


Рис. 1. Определение инфекционной активности вируса ящура на слизистой оболочке языка КРС (*in vivo*)

тии иммунитета у вакцинированных животных. Инфекционную активность ВЯ определяют количественным методом путем титрования на языке крупного рогатого скота и по разности показателей на контрольных и на вакцинированных животных находят значение индекса K , а по его показателю судят о степени развития иммунитета (рис. 1). Индекс K определяли по разности титров, полученных на контрольных (T) и вакцинированных (V) животных:

$$\text{Lg}K = \text{Lg}T - \text{Lg}V$$

Это *in vivo* анализ, а результаты титрования *in vitro* получают после культивирования ВЯ в миниреакторах эксплантатов эпителия языка крупного рогатого скота и оценивают репродуктивную активность клеток по показателям качества вируссодержащей суспензии (РСК, 146 S).

Результаты и их обсуждение

Количественный анализ иммуногенной активности производственных серий противоящурных вакцин за несколько лет на крупном рогатом скоте (*n* = 45 000 голов) свидетельствует о том (табл. 1), что различные концентрации антигена вируса ящура и адьювантов влияют неодинаково на иммуногенную активность.

Таблица 1. Иммуногенная активность производственных серий противоящурных вакцин (*n* = 45 000)

Разведение вакцины	85,0 %-ная защита с титром антител в РН, lg
Прививочная доза	0,6 ± 0,01
Разведение 1/4	1,6 ± 0,01
Разведение 1/16	2,6 ± 0,02

Показано, что для снижения чувствительности слизистой языка крупного рогатого скота к ВЯ (ворота инфекции) требуется больше антигена и адьюванта, чем для получения максимального титра антител (рис. 2).

При культивировании вируса ящура на эксплантатах слизистой оболочки языка КРС в литровых реакторах от животных, вакцинированных разными по составу вакцинами, и ревакцинированных животных получили данные (табл. 2), которые свидетельствовали о том, что после ревакцинации изменялась чувствительность клеток слизистой языка (*in vivo*), а в экспериментах *in vitro* уменьшалась их продуктивная активность. При этом показатели ВНА при вакцинации и ревакцинации неразведенной вакциной не изменялись.

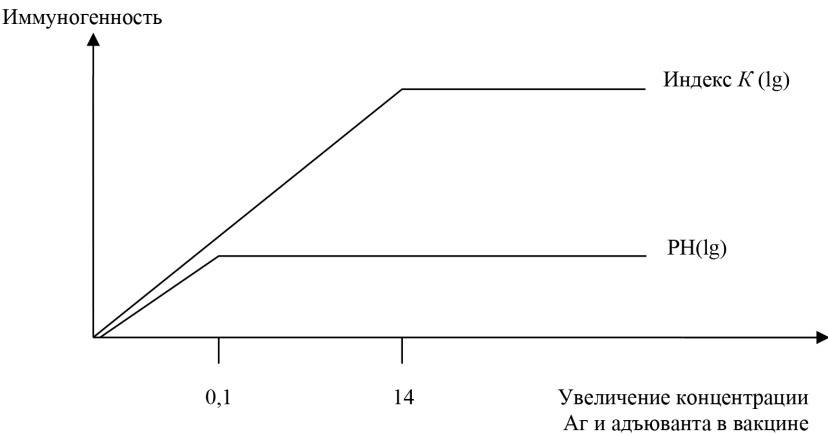


Рис. 2. Рост иммуногенной активности в зависимости от количества антигена и адьювантов

**Таблица 2. Показатели чувствительности и репродуктивности клеток
слизистой оболочки языка, полученных на животных,
иммунизированных промышленной серией вакцин**

Разведение вакцины	<i>In vivo</i>		<i>In vitro</i>	
	Титр РН, lg	Индекс К, lg	Показатели качества суспензии (n = 5)	
			РСК («Техником»), ед.	146 S, мкг/см ³
Прививочная доза	1,7 ± 0,2	3,0 ± 0,8	270 ± 17	4,0 ± 1,0
Разведение 1/4	1,2 ± 0,1	—	306 ± 25	7,0 ± 1,3
Разведение 1/16	0,9 ± 0,1	—	410 ± 28	9,0 ± 1,5
Не вакцинированные	—	—	526 ± 31	14,0 ± 2,4
1-я ревакцинация на 21-й день	1,6 ± 0,2	5,0 ± 0,9	201 ± 19	3,0 ± 0,4
2-я ревакцинация	1,7 ± 0,2	6,0 ± 0,5	160 ± 4	2,0 ± 0,1

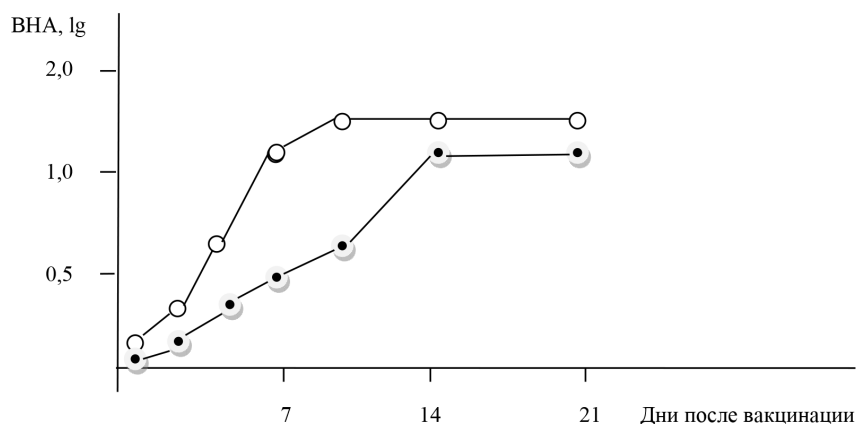


Рис. 3. Динамика изменения титров у животных, вакцинированных промышленной (○) и опытной (●) вакцинами

Изучая динамику изменения титров вируснейтрализующих антител ВНА (G) у вакцинированных животных промышленной серией вакцины и опытной, приготовленной специально для создания раннего иммунитета, получили результаты (рис. 3), свидетельствующие о разной динамике нарастания титров (ВНА) в сыворотке крови у вакцинированных животных опытной серии, содержащей большее количество антигена и адъювантов. Максимальный титр регистрировали на 7-й день, в то время как при применении промышленных серий вакцины – на 14–21-й день.

Выводы

1. В создании специфического иммунитета участвуют все клетки организма, в том числе и соматические.
2. Характер влияния адъювантов в составе вакцины на показатели иммунитета у вакцинированных животных свидетельствует об участии в процессе иммунизации клеток нервной системы.

3. Влияние антигена ВЯ и адъювантов на динамику гуморального иммунитета, а также создание специфической защиты всех клеток у вакцинированных животных можно объяснить действительным участием ДНК клеток организма в процессе иммуногенеза.

Литература

1. Манько, В. М. Ветеринарная иммунология. Фундаментальные основы / В. М. Манько, Д. А. Девришов. – М. : Агровет, 2011. – 749 с.
2. Хаитов, Р. М. Иммунология : учебник. – 3-е изд., перераб. и доп. – М., 2016. – 489 с.
3. Хаитов, Р. М. Иммунология : атлас / Р. М. Хаитов, А. А. Ярилин, Б. В. Пинегин. – М., 2011. – 624 с.
4. Балаж, А. Биология опухолей. Сомнения и надежды / А. Балаж ; пер. с венг. А. А. Кричевской, М. Е. Варга ; под ред. И. Б. Збарского. – М. : Мир, 1987. – 206 с. : ил. – Пер. изд. : *Daganatbiológia. Kétségek és rémenyek* / András Balázs. – Gondolat ; Budapest, 1984.
5. Адъюванты / А. Я. Самуйленко [и др.]. – М., 2016. – 171 с.
6. Тюкавкина, С. Ю. Роль апоптоза в формировании иммунопатологических процессов, способствующих развитию инфекционных заболеваний / С. Ю. Тюкавкина // Иммунология. – 2013. – № 1. – С. 52–57.
7. Методические возможности оценки активации лимфоцитов *in vitro* / Е. Л. Семикина [и др.] // Иммунология. – 2014. – № 2. – С. 85–88.
8. Формирование антитуляремийного клеточного и гуморального иммунного ответа, индуцированного у мышей / В. В. Фирстова [и др.] // Иммунология. – 2014. – № 3. – С. 147–150.
9. Хаитов, Р. М. Вклад Александра Александровича Ярилина в развитие современной иммунологии / Р. М. Хаитов, В. М. Манько // Иммунология. – 2014. – № 4. – С. 172–195.
10. Роль галектина-1 в регуляции дифференцировки CD4⁺CD25⁺/CD4⁺CD25⁺/FOXP3⁺ клеток *in vitro* / О. А. Васильева [и др.] // Иммунология. – 2014. – № 6. – С. 300–305.
11. Савилова, А. М. Сравнительное исследование экспрессии мРНК интерлейкина-2 и рецептора интерлейкина-2A в лимфоцитах, активированных ФГА и КОНА // А. М. Савилова, М. М. Чулкина, Л. П. Алексеев // Иммунология. – 2013. – Т. 34, №2. – С. 76–80.
12. Харченко Е. П. ВИЧ: коллизии вакцинологии // Е. П. Харченко // Иммунология. – 2012. – № 4. – С. 206–212.
13. Топтыгина А. П. Лимфоидный фолликул – территория иммунного ответа / А. П. Топтыгина // Иммунология. – 2012. – № 3. – С. 162–169.
14. Влияние рекомбинантных белков Gorg и NS3 вируса гепатита С на созревание и функции дендритных клеток, генерируемых *in vitro* в присутствии интерферона-А / Е. А. Олейник [и др.] // Иммунология. – 2016. – № 5. – С. 239–245.
15. Иммуногенетика: новые возможности в решении задач профилактики и прогнозирования эффектов радиации малых и средних доз на индивидуальном уровне / К. В. Уткин [и др.] // Иммунология. – 2015. – № 6. – С. 332–336.
16. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле / И. В. Нестерова [и др.]. – Иммунология. – 2015. – № 4. – С. 257–265.
17. Двойственная роль нейтрофильных гранулоцитов в реализации противоопухолевой защиты / И. В. Нестерова [и др.]. – Иммунология. – 2012. – № 5. – С. 281–287.
18. Атауллаханов, Р. И. Адъюванты в составе вакцин. Сообщение 2. Масляные эмульсии, липосомы, виросомы, археосомы, экзосомы / Р. И. Атауллаханов, Р. М. Хаитов // Иммунология. – 2011. № 2. – С. 101–109.

19. Продукция цитокинов стромальными клетками костного мозга и селезенки под влиянием препаратов микробных клеток *in vitro* / Ю. Ф. Горская [и др.] // Иммунология. – 2011. – № 5. – С. 236–239.

20. Колбацкая, О. П. Субпопуляции лимфоцитов костного мозга у больных острыми лейкозами в период диагностики заболевания / О. П. Колбацкая, Н. Н. Тупицын // Иммунология. – 2012. № 2. – С. 77–82.

21. Инфекционная патология животных : руководство : в 7 т. / ред. А. Я. Самуйленко. – М. : ВНИТИБП, 2014. – Т. 1 : Ящур. – 264 с.

Поступила 30.06.2017 г.

УДК 614.47

В. И. Клюкина

СТРАТЕГИЯ ДНК-ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ БЕШЕНСТВА

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», пос. Биокомбината, Щелковский р-н, Московская обл., Россия

Введение

Бешенство характеризуется как одна из социально значимых и особо опасных инфекций, вызывается вирусом бешенства из рода *Lyssavirus*, широко распространено во многих развивающихся странах мира и остается одной из важнейших проблем ветеринарии и здравоохранения. Напряженная обстановка по бешенству диких и домашних животных на протяжении последних десятилетий сохраняется во многих регионах Российской Федерации. Согласно данным ЦНМ ветеринарной лаборатории Россельхознадзора, только с 1 по 15 июня 2017 г. в России зафиксировано 48 случаев бешенства. Наибольшее количество случаев выявлено в Московской и Тверской областях. В большинстве своем бешенство отмечается у лис – 17 случаев, собак – 12, кошек – 8 случаев [2].

Несмотря на безопасность и доступность широко применяемых в иммунопрофилактике бешенства множества клеточно-культуральных вакцин, их эффективность зависит от соблюдения правил хранения, общего состояния здоровья объекта и способа вакцинации. Высокая стоимость и риск развития нервнопаралитических или энцефалитных побочных реакций диктует необходимость создания современных вакцин на основе иммуногенов, способных индуцировать протективный иммунный Th2 ответ [1].

Впервые концепция вакцин на основе генно-инженерных конструкций была выдвинута в середине 1990-х годов. Было продемонстрировано, что ДНК-вакцины способны экспрессировать антиген вируса бешенства и после введения мышам индуцировать напряженный гуморальный Th2 иммунный ответ [5]. Для получения ДНК-вакцин ген, кодирующий продукцию иммуногенного

белка, необходимо встроить в вектор, роль которого выполняют бактериальная плазмида или вирус, при этом сам вектор не должен реплицироваться в клетках макроорганизма. Для конструирования ДНК-вакцин используют плазмиды бактерий *E. coli*, векторы для ДНК-вакцин – pcDNA3 и pcDNA3, которые содержат цитомегаловирусный промотор и сигнал полиаденилирования гена гормона роста быка, pVAX1, pCI, VR1012 DNA, pJW4303, pVAC1-mcs и pVAC2-mcs [8].

В настоящее время на разных этапах разработки находится несколько вариантов антирабической ДНК-вакцины, на основе гликопротеина (G) вируса, ответственного за индукцию вируснейтрализующих антител.

Первые результаты создания растительных «съедобных» вакцин против бешенства были продемонстрированы на примере получения рекомбинантных частиц, содержащих химерный пептид Drg24, состоящий из двух эпитопов вируса бешенства, конъюгированный с носителем, покровным протеином вируса мозаики люцерны AIMV-CP. Рекомбинантные частицы сохранялись в желудочно-кишечном тракте, стимулировали специфические иммунные реакции, а также предохраняли мышей от интраназального заражения штаммом «CVS-F3». Вирусспецифический IgG и IgA иммунный ответ мышей, иммунизированный перорально CP-Drg24, защищал 40,0 % мышей от заражения летальной дозой вируса [9].

Рекомбинантные кандидатные ДНК-вакцины против бешенства на основе нановирусных частиц аденовируса или вируса коровьей оспы индуцируют как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ, и могут применяться как для парентерального, так и для перорального введения. Вакцинные препараты на основе аденовирусов более эффективны, безопасны для человека и животных и могут быть востребованы в эндемичных по бешенству странах для иммунизации животных и людей.

Для повышения эффективности ДНК-вакцины необходимы разработки альтернативных, неинъекционных методов иммунизации, таких как транскожные (кожные) и мукозальные [4, 6]. Активно изучается эффективный способ внутрикожной доставки антигена генным пистолетом, при котором требуется до 2500 раз меньше ДНК, чем при стандартной внутримышечной схеме. Применение 1 мкг ДНК-вакцины вызывало формирование Th2 иммунного ответа и 50,0 %-ную защиту мышей линии BALB/c, в сравнении с 62,5 %-ной защитой после внутримышечного введения 100 мкг ДНК-вакцины [10].

До настоящего времени для усиления эффективности ДНК-вакцин изучены генетические, на основе цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-12, ИЛ-15, ИФ- γ) или химические (соли алюминия, фосфат кальция, липосомы, полимеры, микрочастицы) адъюванты, которые показали способность повышения иммуногенности плазмидных ДНК-вакцин для различных животных [1, 3, 5]. Экспериментально оценивали иммуностимулирующий потенциал минеральной эмульсии (масло в воде) с размером частиц 1–2 мк, в качестве адъюванта. Эффективность такого рода эмульсий заключается в увеличении площади поверхности, доступной

для распределения антигена, что вызывает более высокий уровень гуморального ответа. Анализ распределения подклассов IgG, подтвердил стимулирование Th1 и Th2 иммунного антирабического ответа. Общеизвестно что синтез IgG1 индуцируется при помощи Th2-клеток, тогда как активность Th1 приводит к продукции IgG2a и IgG2b [4, 10].

Терапевтический потенциал ДНК-вакцины против бешенства был исследован на мышах линии BALB/c, экспериментально зараженных вирусом бешенства. Постэкспозиционная терапия пятикратным введением ДНК-вакцины давала 100 %-ную защиту мышей в сравнении с трехкратной, формировавшей 80,0 %-ную защиту.

Серьезным препятствием для испытаний ДНК-вакцин является сложность перенесения успешных результатов, полученных в доклинических исследованиях на лабораторных животных, на более крупных животных в клинической практике. В этом случае стратегия повышения эффективности ДНК-иммунизации основана на выборе адъювантов, использовании бустерных доз, ассоциации ДНК-вакцин с антирабической иммунной сывороткой и клеточно-культуральной вакциной. Доказана эффективность ДНК-вакцины для крупного рогатого скота, однократная иммунизация которой была сравнима с эффектом пяти доз клеточно-культуральной вакцины. Эффективная схема применения такой вакцины индуцировала клеточно-опосредованный CD8 и CD4 иммунный ответ и высокий гуморальный ответ.

В исследованиях, проведенных на непарнокопытных, установлено, что совместное введение плазмидной ДНК-вакцины в дозе 200 мкг однократно с адъювантом (катионный липид) индуцировал уровень сероконверсии 75,0–100,0 % в ранние сроки с более высокими титрами антирабических вируснейтрализующих антител [10]. Для собак внутримышечная иммунизация ДНК-вакциной была эффективнее внутрикожной и высокий уровень сероконверсии (8МЕ/мл) достигался при многократной иммунизации [7].

В настоящее время обосновывается экономически эффективная стратегия профилактической вакцинации комбинированным введением ДНК-вакцины и клеточно-культуральной инактивированной вакцины против бешенства. Экспериментальные исследования на крупном рогатом скоте показали превосходство комбинированной вакцины, которая в 2,0 раза превосходила эффективность культуральной инактивированной вакцины против бешенства [10].

Заключение

Стратегия ДНК-иммунизации направлена на совершенствование схемы и способа введения антигена, сокращение дозы ДНК-вакцины, обеспечивающих полную защиту животных от возможного заражения бешенством, что особенно важно для развивающихся стран, где экономически необходимо снижение затрат и увеличение охвата вакцинацией животных против бешенства.

Литература и источники

1. Вакцины против бешенства: Современное состояние и перспективы развития / Е. С. Стародубова [и др.] // Молекулярная биология. – 2015. – Т. 49, № 4. – С. 577–584.
2. Об эпизоотической обстановке по бешенству на территории России в первой половине июня [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fsvps.ru/fsvps/news/21657.html>. – Дата доступа: 21.06.2017.
3. Попов, Ю. А. Генетические (ДНК) вакцины / Ю. А. Попов, Н. И. Микшис // Проблемы особо опасных инфекций. – 2010. – Вып. 105. – С. 20–24.
4. Семенов, Б. Ф. / Прогноз развития вакцинопрофилактики в первые десятилетия XXI века / Б. Ф. Семенов, В. В. Зверев, Р. М. Хаитов // Педиатрическая фармакология. – 2009. – Т. 6, № 5. – С. 96–106.
5. Тучков, И. В. ДНК иммунизация против бешенства / И. В. Тучков, А. К. Никифоров // Проблемы особо опасных инфекций. – 2010. – Вып. 104. – С. 74–77.
6. DNA vaccines: protective immunizations by parenteral, mucosal, and gene-gun inoculations / E. F. Fynan [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1993. – Vol. 90. – P. 11478–11482.
7. Field trials of a very potent rabies DNA vaccine which induced long lasting virus neutralizing antibodies and protection in dogs in experimental conditions / C. Bahloul [et al.] // Vaccine. – 2005. – Vol. 24, № 8. – P. 1063–1072.
8. Lodmell, D. L. Gene gun particle-mediated vaccination with plasmid DNA confers protective immunity against rabies virus infection / D. L. Lodmell, N. B. Ray, L. C. Ewalt // Vaccine. – 1998. – Vol. 16, № 2/3. – P. 115–118.
9. Modelska, Anna. Immunisation against rabies with plant derived antigen / Anna Modelska, Bernard Dietzschold, N. Sleysh // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1998. – Vol. 95, № 3. – P. 2481–2485.
10. Rabies DNA vaccine encoding lysosome-targeted glycoprotein supplemented with Emulsigen-D confers complete protection in preexposure and postexposure studies in BALB/c mice / M. Kaur [et al.] // FASEB J. – 2010. – Vol. 24, № 1. – P. 173–183.

Поступила 30.06.2017 г.

УДК 619:615.37.012

**А. Я. Самуйленко, Т. А. Скотникова, В. И. Еремец,
Н. К. Еремец, И. В. Ковальский**

СИСТЕМЫ МЕНЕДЖМЕНТА КАЧЕСТВА БИОПРЕДПРИЯТИЙ АГРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности», пос. Биокомбината, Щелковский р-н,
Московская обл., Россия*

Введение

На современном этапе интенсивно развивающаяся отрасль животноводства не может обходиться без использования биологических препаратов (БП), особенно ветеринарных иммунобиологических препаратов (ИМБП) для своевременной профилактики, диагностики и лечения инфекционных болезней животных и птицы, а также без различных премиксов и биологически активных добавок к кормам. Отечественный рынок ИМБП оценивается в 235,7 млн долл. США и этот показатель будет увеличиваться ежегодно на 7,0–10,0 % [3].

Основная часть БП, используемых в животноводстве Российской Федерации, импортного происхождения. Объем международного рынка биотехнологий в 2016 г. составил более 350 млрд долл. США, доля российского рынка – меньше 0,1 % [2]. Состояние отечественной биотехнологии характеризуется отставанием объемов производства от уровня и темпов роста в странах – лидерах в данной области; возрастающим спросом на БП со стороны потребителей внутри страны; высокой импортозависимостью по важнейшим традиционным продуктам – лекарственным препаратам и кормовым добавкам; отсутствием на российском рынке собственной инновационной продукции.

В настоящее время производственные мощности отечественных биофарм-предприятий позволяют на 98,0 % удовлетворить потребности страны в средствах специфической профилактики болезней животных. Большинство этих предприятий имеет аттестацию GMP, подтвержденную экспертами Евросоюза, что свидетельствует о качестве их продукции и современных условиях организации производства.

Ветеринарное сообщество России на VI Международном ветеринарном конгрессе «Единый мир – единое здоровье» (г. Сочи, 12–15 апреля 2016 г.) определило приоритетные направления усилий по развитию животноводства и ветеринарии, как в мире, так и в нашей стране, куда вошло и обеспечение ветеринарного благополучия. Эта стратегия выражается в интенсивном и целенаправленном развитии таких направлений, как:

- актуализация, развитие и совершенствование нормативной и законодательной базы;
- развитие фундаментальных исследований в области ветеринарной микробиологии, фармацевтики, биотехнологии и других общебиологических направлений науки;
- создание высокотехнологичного производства собственной кормовой базы для нужд животноводства и птицеводства;
- актуализация вопросов импортозамещения в биологической и фарминдустрии.

На сегодня устаревшая промышленная база части отечественных биотехнологических компаний, не сертифицированных по GMP, существенно ограничивает выпуск инновационных препаратов и вывод их на зарубежные рынки. В связи с этим необходимо увеличить экспортный потенциал российской иммунобиологической отрасли путем расширения производства современных препаратов, соответствующих требованиям международных стандартов, и их продвижения на внешние рынки.

Материалы и методы исследований

В процессе исследований проведен анализ литературных источников, международных и отечественных нормативных документов, статистических изданий Росстата и материалов Минсельхоза Российской Федерации, а также монографий, методических материалов научных конференций, семинаров, средств массовой информации и сети Интернет.

Результаты и их обсуждение

Общая глобализация мирового рынка БП, вступление России в ВТО и образование рынка ЕврАзЭС усиливают конкуренцию производителей. Сегодня качество продукции рассматривается как категория экономическая, а предприятие – как бизнес-система. Продукция и услуги российских компаний, не владеющих практикой применения международных стандартов (МС), оказываются в этих условиях неконкурентоспособными, что может привести к потере внутреннего рынка, так как наличие сертификата соответствия системы менеджмента качества (СМК) международному стандарту ISO 9001-2015 – одно из основных условий тендеров по поставке продукции и услуг.

Для успешного развития отечественных биофармпредприятий необходима СМК, построенная на правилах GMP и на основе МС ISO серий 9000, совмещаемая со стандартами серий 14000, SA 8000, OHSAS серии 18000, IDEF и др. Стандарт ISO 9001-2015 определяет СМК как систему менеджмента для руководства и управления организацией применительно к качеству, а качество – как степень соответствия требованиям совокупности присущих характеристик. Главное достоинство стандартов ISO серии 9000 – универсальность, позволяющая создать классическую управленческую модель независимо от специфики производства или другой деятельности. Стандарты описывают процесс построения и функционирования СМК с учетом международных требований к уровню качества.

Использование внутри страны МС производства продукции и оказания услуг особенно важно при изготовлении лекарственных средств (ЛС), в том числе ИМБП. Особенностью ЛС является то, что потребитель не может оценить их качество до применения, поэтому оно должно соответствовать правилам GMP – ГОСТ Р 52249-2009, которые служат общим руководством, устанавливающим порядок организации производственного процесса и контроля. Приказ № 916 Минпромторга Российской Федерации (далее – «Правила-2013») [1] изменил взгляды на концепцию и модель построения СМК в производящей ЛС отрасли. Были введены понятия: «фармацевтическая система качества», «жизненный цикл продукции», «анализ и менеджмент рисков», «инструменты в области качества». При интеграции отдельные элементы СМК, соответствующие ISO 9001, конкретизируются требованиями практик GMP, которые имеют ярко выраженный отраслевой характер и предназначены для фармацевтической отрасли. По терминологии ВОЗ обеспечение качества – совокупность мероприятий, осуществляемых для того, чтобы гарантировать качество ЛС в соответствии с их применением. В аспекте международных требований это всеобъемлющая концепция, охватывающая обеспечение качества ЛС на всех этапах его жизненного цикла. «Правила-2013» – национальные правила GMP Российской Федерации, обязательные для выполнения содержащихся в них требований отечественными фармацевтическими, медицинскими и биологическими предприятиями.

С 1 января 2014 г. создан департамент Минпромторга Российской Федерации, работает инспекторат, проверяющий российских производителей на соответствие GMP, что должно обеспечивать высокое качество выпускаемых российских ЛС и гарантировать успешное импортозамещение в данной области.

Принят закон о внесении многочисленных изменений в Федеральный закон (далее – ФЗ) от 12.04.2010 г. № 61 «Об обращении лекарственных средств» – ФЗ от 22.12.2014 г. № 496, уточняющий понятийный аппарат, устраняющий недочеты, касающиеся правил производства, контроля качества и регистрации лекарственных препаратов. Постановление Правительства Российской Федерации от 12.09.2015 г. № 971 «О внесении изменений в некоторые акты Правительства Российской Федерации по вопросам обращения лекарственных средств для ветеринарного применения» внесло изменения в связи с вышеуказанными документами в части наделения соответствующих ведомств новыми полномочиями.

В Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года сказано, что в России в обязательном порядке должны быть внедрены правила GMP. Федеральным законом № 61 установлен срок перехода производителей на эти правила: с 1 января 2014 г. МС GMP стали обязательными для российских фармацевтических предприятий. Аналогичные требования в отношении лекарственных препаратов для ветеринарного применения в соответствии с изменениями, внесенными в ФЗ, вступают в силу с 1 января 2017 г. Акцент на МС производства предполагает кардинальное преобразование фармацевтического рынка страны.

После внесения изменений в нормативно-правовую базу Российской Федерации (ФЗ № 61) принят нормативный акт о создании сети аккредитованных лабораторий, соответствующих требованиям GLP (надлежащая лабораторная практика). Система норм, правил и указаний направлена на обеспечение согласованности и достоверности результатов лабораторных исследований. Стандарт GLP обязателен в Европейском Союзе. Одно из условий присоединения Российской Федерации к Организации экономического сотрудничества и развития – наличие в стране лабораторий, работающих по системе GLP.

Обязательным требованием государственного регулирования при экспертизе качества и оценке соответствия ЛС, в том числе ИМБП, предусмотрено применение стандартных образцов. Если отсутствуют эталоны (международные стандартные образцы ВОЗ, европейской и других фармакопей), то используют отраслевые стандартные образцы. Государственная Фармакопея Российской Федерации (вып. XIII, 2015 г.), в которую вошло 229 общих и 179 фармакопейных статей, – основной документ для работ по стандартизации в системе GMP.

В современной системе обеспечения качества необходимы математико-статистические методы, объединенные в систему статистического управления технологическим процессом. Изготовление ИМБП, как правило, осуществляется сериями, уровень параметров качества которых не всегда формируется

в одинаковых условиях. При этом возможна неоднородность по качеству из-за действия различных факторов, в том числе неконтролируемых и неуправляемых, таких как старение материалов, износ оборудования и инструментов, разница в сырье и т. п. В таком процессе невозможно производство одинаковых серий препаратов, поэтому необходимо применять статистические методы сбора, систематизации и анализа данных, выбирать альтернативные варианты решения поставленных задач, оценки точности, настроенности оборудования, регулирования и управления технологическим процессом.

Отдел обеспечения качества ЛС для ветеринарии и животноводства ВНИТИБП проводит научную работу по актуализации и гармонизации национальных документов с международными стандартами, активно сотрудничает с предприятиями биологической промышленности. В помощь специалистам предприятий, разрабатывающих и внедряющих СМК, в 2001–2014 гг. разработан комплект документов системы качества [3, 5]. Эти документы апробированы, реализованы в опытном производстве института и на биофармпредприятиях (Щелковский биокомбинат; Курская, Ставропольская, Орловская и Армавирская биофабрики; Покровский завод биопрепаратов и др.). Впервые разработан национальный российский стандарт ГОСТ Р 54763-2011 «Средства лекарственные для животных. Технологические регламенты производства. Содержание, порядок разработки, согласования и утверждения». Соблюдение требований ГОСТа к созданию технологической документации производства ЛС для ветеринарии – обязательное условие аттестации предприятия.

Заключение

Эффективность биофармпредприятия зависит от организации производственных процессов, использования ресурсов, оперативности реагирования на рыночную конъюнктуру и гибкости управления производством. Деятельность отдела обеспечения качества лекарственных средств ВНИТИБП по вопросам разработки и внедрения систем менеджмента направлена на повышение конкурентоспособности продукции для ветеринарии и животноводства на внутреннем и мировом рынках.

Литература и источники

1. Комментарий к Руководству Европейского Союза по надлежащей практике производства лекарственных средств и применения в ветеринарии / под ред. С. Н. Быковского, И. А. Василенко, С. В. Максимова. – М. : Изд-во «Перо», 2014. – 488 с.
2. Обзор рынка биотехнологий России и оценка перспектив его развития [Электронный ресурс] / Московская биржа – РБК. – Frost&Sullivan, 2014. – Режим доступа: http://www.rusventure.ru/ru/programm/analytics/docs/20141020_Russia%20Biotechnology%20Market_fin.pdf. – Дата доступа: 21.09.2016.
3. Развитие систем менеджмента качества производства лекарственных средств для ветеринарии / Э. Ф. Токарик [и др.] // Инновационные подходы к решению современных проблем ветеринарной медицины : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – УралНИВИ – юбилейная

2015 г. «Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии». – 2015. – № 2. – С. 357–359.

4. Российский рынок биотехнологий: лидеры отрасли, перспективные молодые проекты и инвесторы [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://vc.ru/p/biotech-russia>. – Дата доступа: 21.09.2016.

5. Стандартизация требований при разработке и производстве лекарственных средств для ветеринарного применения / А. Я. Самуйленко [и др.] // Ветеринария. – 2013. – № 8. – С. 11–16.

Поступила 30.06.2017 г.

УДК 619:579.862.1

**А. Я. Самуйленко, Е. Э. Школьников, А. А. Раевский,
В. И. Еремец, Н. В. Сокорев**

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРОИЗВОДСТВА ВАКЦИНЫ ПРОТИВ СТРЕПТОКОККОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности», пос. Биокомбината, Щелковский р-н,
Московская обл., Россия*

Введение

Стрептококкоз крупного рогатого скота как в виде моноинфекции, так и смешанной инфекции повсеместно регистрируется в скотоводческих хозяйствах и наносит большой экономический ущерб. У коров стрептококкоз проявляется в виде абортотоксикозов, метритов и маститов. Телята болеют с первых дней рождения такими заболеваниями, как пупочный сепсис, поражение суставов, энтерит, пневмония. Летальность среди молодняка может достигать 70,0 %. У переболевших животных значительно уменьшается молочная продуктивность, нарушается воспроизводительная функция коров, снижается в санитарном отношении качество продукции.

Болезнь имеет экономико-социальное значение, так как стрептококки вызывают различные заболевания и у человека: скарлатину, рожу, ангину, гнойничковые поражения кожи. Широкое распространение стрептококков среди обслуживающего персонала животноводческих хозяйств может привести к инфицированию животных. Не исключена возможность и передачи возбудителя от животных к человеку.

Значительные средства затрачиваются на лечение больных стрептококковым животными, на проведение ветеринарно-санитарных мероприятий. Однако эпизоотическая ситуация трудно поддается контролю из-за множества видов и серогрупп возбудителя, широкого микробоносительства среди животных и человека, отсутствия достаточно эффективных средств специфической профилактики.

Результаты обследования неблагополучных по стрептококкозу хозяйств показали, что в возникновении заболевания существенное значение имеет действие различных предрасполагающих факторов: неполноценный рацион кормления, нарушение параметров микроклимата, отсутствие моциона, стрессы и др.

Исходя из существующей ситуации, можно утверждать, что в ближайшие годы проводить профилактику стрептококкоза путем создания оптимальных условий кормления и содержания животных в большинстве хозяйств не представляется возможным, поэтому основной упор надо делать на специфическую профилактику заболеваний.

Выпускаемая в настоящее время коммерческая вакцина против энтерококковой инфекции телят, ягнят и поросят обладает невысокой эффективностью. Это объясняется тем, что указанная вакцина, содержащая антиген только из стрептококков серогруппы D, не предохраняет от стрептококков серологических групп В и С, которые часто являются этиологическим фактором заболевания не только телят, но и коров (табл. 1).

Таблица 1. Этиология стрептококкоза крупного рогатого скота

Вид стрептококка	Серогруппа	Вызываемая патология
<i>Str. agalactiae</i>	В	Мастит
<i>Str. zooepidemicus</i>	С	Гнойные инфекции (респираторные органы, мочеполовая система, мастит, артриты, воспаление пупочного канатика и др.)
<i>Ent. faecalis, Ent. faecium</i>	Д	Энтериты, септицемия, пневмония, мастит, менингит

В МВА имени К. И. Скрябина и ВГНКИ разработана опытная моноштаммовая гидроокисьалюминиевая формолвакцина против стрептококковых заболеваний крупного рогатого скота. Опытная серия данной вакцины из штамма серогруппы С *Str. zooepidemicus* П-2082 была успешно испытана на коровах в неблагополучных по стрептококкозу хозяйствах Республики Беларусь. Испытания показали, что эта вакцина в сравнении с коммерческой вакциной против энтерококковой инфекции телят, ягнят и поросят является более иммуногенной и формирует более напряженный иммунитет. Однако способ получения такой вакцины является малопродуктивным. Культивирование стрептококков осуществляется в стеклянных баллонах без контроля основных технологических параметров, длительность культивирования составляет 18–24 ч, накопление стрептококков не превышает 2 млрд м.к/см³.

Известно, что увеличение длительности культивирования приводит к потере протективных антигенов, к снижению жизнеспособности бактериальных клеток, а значит и к уменьшению их вирулентности, в конечном итоге – к снижению их иммуногенности.

Таким образом, для приготовления вакцины против стрептококковых заболеваний крупного рогатого скота необходимо использовать полноценные в антигенном отношении культуры стрептококков серогрупп В, С и Д.

Технология изготовления бактериальных вакцин – многоаспектная проблема, ключевым направлением которой является разработка управляемых процессов культивирования микроорганизмов [1–5].

Одним из недостатков при производстве вакцины против стрептококковых инфекций является разработанный еще в 1960-е годы общепринятый процесс инактивации, при котором используют избыточное количество инактиванта, вводимого в бактериальные культуры, и неоправданно длительный срок инактивации. К тому же избыточное количество инактиванта (формалина) в вакцине отрицательно влияет на организм иммунизируемого животного.

Цель исследований – разработать технологию изготовления полиштамменной гидроокисьалюминиевой формолвакцины против стрептококковых заболеваний крупного рогатого скота.

В соответствии с этим было необходимо: подобрать вакцинные штаммы стрептококков серологических групп В, С и D; отработать технологию управляемого глубинного культивирования отобранных штаммов стрептококков в лабораторных условиях; приготовить опытные серии полиштамменной ГОА-вакцины против стрептококковых заболеваний крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований

В работе использовали производственные штаммы *Streptococcus agalactiae* (серогруппа В), *Streptococcus zooepidemicus* (серогруппа С) и *Enterococcus faecalis* (серогруппа D).

Выращивание стрептококков проводили с использованием питательной среды, приготовленной по действующей инструкции на вакцину (Инструкция по изготовлению и контролю вакцины, депонированной против стрептококкоза свиней (серогруппы С и R), 1988 г.) и оптимизированной ранее питательной среды на основе перевара Хоттингера.

Культивирование производственного штамма *Streptococcus zooepidemicus* (серогруппа С) проводили по ранее разработанному нами оптимальному режиму периодического управляемого выращивания.

Инактивацию стрептококков проводили по действующему и разработанному нами режиму с использованием формальдегида [2, 5]. Полноту инактивации определяли путем высевов на МПА и МПБ, адьювант – 3,0 %-ный гель гидрата окиси алюминия.

В процессе работы культуры стрептококков исследовали по следующим показателям: морфология, культуральные свойства, жизнеспособность, оптическая плотность.

Для культивирования стрептококков использовали multifunctionальный лабораторный комплекс приборов и устройств АНКУМ-2М емкостью 10 л.

Биореактор оснащен перемешивающим устройством с магнитной муфтой и изменяемой скоростью вращения мешалки, установлены датчики измерения

температуры, рН, окислительно-восстановительного потенциала среды (Еh), датчик растворенного в культуральной жидкости кислорода (рО₂).

При интенсивном росте в ферментере стрептококков применяли пеногаситель пропинол Б-400. Содержание рН в культуральной жидкости определяли потенциометрически, уровень растворенного кислорода рО₂ – датчиками, изготовленными в СКБ БП (г. Пущино), еН – потенциометрически с использованием электродов с ионной проводимостью типа ЭО-01. Оптическую плотность культуры стрептококков измеряли на фотоколориметре КФК-2 и блоке оптической плотности аппарата АНКУМ-2М.

Результаты и их обсуждение

При анализе изменений основных параметров культивирования (рН, рО₂, еН) в процессе выращивания стрептококков по инструктивному режиму было установлено, что примерно через 3 ч культивирования исчерпывается один из элементов питания (глюкоза), в этот момент наблюдается подъем рО₂, прекращение снижения рН – явные признаки лимитирования. Данное предположение подтверждается изменением оптической плотности культур при выращивании стрептококков в инструктивном режиме – примерно через 3 ч наблюдается прекращение логарифмического роста и переход процесса в стадию замедления.

Это позволяет предположить, что для интенсификации процесса выращивания стрептококков в питательной среде на основе бульона Хоттингера необходима дробная подача лимитирующего их рост компонента (глюкозы) питательной среды, а также регулирование рН и рО₂.

По результатам анализа существующего процесса выращивания стрептококков нами разработан режим управляемого культивирования.

Питательную среду в ферментере засеивали культурой стрептококков и выращивали в течение 6–8 ч при температуре 37 °С. После засева ферментера окислительно-восстановительный потенциал культуральной жидкости снижался до –150...–200 мВ, после чего до окончания процесса культивирования поддерживали рО₂ на уровне 15,0–25,0 % от насыщения кислородом воздуха. рН культуральной жидкости регулировали на уровне 6,8–7,2, а дробную подачу глюкозы осуществляли дозами до концентрации 0,05–0,20 % при лимитировании роста стрептококков глюкозой, характеризующимся резким повышением рО₂ при неизменных расходе воздуха и оборотах мешалки и прекращением снижения рН культуральной жидкости.

Культура в процессе всего культивирования сохраняла свои культуральные свойства и была типичной по морфологии – кокки в виде цепочек.

Процесс периодического управляемого культивирования стрептококков характеризуется следующими показателями: длительность фазы приспособления – 2,3–2,6 ч; продолжительность логарифмической фазы роста – 3,3–4,2 ч; максимальная удельная скорость роста – 0,44–1,54 1/ч; максимальное нако-

пление составило 3,1 млрд/см³. Культура в процессе всего культивирования сохраняла свои культуральные свойства и была типичной по морфологии – кокки в виде цепочек.

Как показали результаты исследований, управляемый режим культивирования по сравнению с существующим процессом позволил увеличить накопление стрептококков в 2,5 раза.

При этом была увеличена удельная скорость роста и несколько увеличилась продолжительность фазы приспособления.

С целью уменьшения этого показателя засев питательной среды производили инокулятом, взятым с логарифмической стадии роста. При этом показатели роста стрептококков при управляемом режиме культивирования составили: длительность фазы приспособления – 0,25–0,65 ч; продолжительность логарифмической фазы роста – 1,85–3,15 ч; максимальная скорость роста – 0,64–1,5 1/ч; максимальное накопление – 6,3 млрд/см³.

Следовательно, засев питательной среды культурой стрептококков, взятой с логарифмической фазы роста, в сочетании с управляемым процессом культивирования позволил в 2,5–5,0 раз уменьшить длительность фазы приспособления и увеличить в 3,0–4,0 раза накопление стрептококков. При этом сохранялись все типичные биологические свойства стрептококков.

Одним из путей повышения иммуногенности инактивированных вакцин может служить разработка щадящих режимов инактивации микроорганизмов.

Щадящие режимы инактивации, включающие совместное действие сублетальных концентраций формальдегида и нефизиологических температур (выше 37 °С), позволяют понизить количество вводимого в бактериальную суспензию формальдегида, добиться полной и необратимой инактивации бактерий и существенно сократить время инактивации.

Сравнительные данные исследований инструктивного и щадящего режимов инактивации стрептококков представлены в табл. 2.

Таблица 2. Значения параметров инактивации стрептококков

Технологические параметры инактивации	Значение параметров инактивации	
	щадящий режим	инструктивный режим
Содержание фА, %	0,05	0,10–0,15
Температура, °С	45	39–40
Время, сут.	3–4	7–12

После установления путем высевов на питательные среды (МПА, МПБ) стерильности в биореактор добавляли стерильный 3,0 %-ный гель алюминия гидрата окиси по ГОСТ 18287-81 в количестве 15,0 % к общему объему культуры и перемешивали.

Сорбцию вели при температуре 18–20 °С в течение 3–5 сут. до полного просветления надосадочной жидкости.

После отстаивания баккультуру концентрировали путем декантации 1/4–1/5 объема надосадочной жидкости.

Адсорбированную культуру подщелачивали 10,0 %-ным раствором NaOH до pH 7,2–7,6.

Адсорбированную смесь культур фасовали в стерильные флаконы по 100 см³.

Заключение

На основании проведенных исследований по оптимизации технологических процессов изготовлена опытная серия полиштамменной гидроокисьалюминиевой формолвакцины против стрептококковых инфекций крупного рогатого скота.

Формолвакцина полиштамменная гидроокисьалюминиевая против стрептококковых инфекций крупного рогатого скота является безвредной и иммуногенной и может быть рекомендована к испытанию в практике ветеринарной медицины для профилактики инфекций стрептококковой этиологии крупного рогатого скота.

Литература

1. Инфекционная патология животных / под ред. А. Я. Самуйленко. – М., 2009. – Т. 3. – С. 473–497.
2. Исследование и разработка управляемых процессов культивирования стрептококков / А. А. Раевский [и др.] // Ветеринарная биотехнология: настоящее и будущее : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Щелково, 2004. – С. 200–203.
3. Разработка и испытание инактивированной гидроокисьалюминиевой вакцины против инфекционных пневмоний бактериальной этиологии / А. А. Раевский [и др.] // Научные основы технологии производства ветеринарных биопрепаратов : сб. докл. Междунар. конф. молодых ученых. – Щелково, 2002. – С. 117–120.
4. Разработка новых технологий изготовления противобактериальных препаратов / А. А. Раевский [и др.] // Биотехнология–2000 : семинар-презентация инновац. науч.-техн. проектов. – Пушкино, 2000. – С. 28–29.
5. Разработка управляемого процесса культивирования стрептококков / А. А. Раевский [и др.] // Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов : материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Щелково, 2003. – С. 68–72.

Поступила 30.06.2017 г.

**СОЗДАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК,
ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ, ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ
И ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ**

УДК 571.27

Е. А. Моренко¹, Т. С. Коваленко¹, В. Е. Михеев¹, А. В. Пашенко²

**РАЗРАБОТКА НОВОГО БИОГЕННОГО СТИМУЛЯТОРА
ДЛЯ ЖИВОТНЫХ КАК ЗАМЕНИТЕЛЯ
КОРМОВЫХ АНТИБИОТИКОВ И ГОРМОНОВ**

¹ФКП «Армавирская биофабрика», пос. Прогресс, Краснодарский край,
Новокубанский р-н, Россия

²ООД «Лабораторные биологические модуляторы», Болгария

Введение

В целях интенсификации животноводства и птицеводства, повышения привесов мяса и других продуктов животного происхождения в сельском хозяйстве нашей страны для стимуляции роста, повышения эффективности откорма скота и птицы, а также в качестве лечебно-профилактических средств применяются разнообразные кормовые антибиотики [4]. В связи с их многолетним массовым применением для стимуляции роста сельскохозяйственных животных выяснилось, что при длительном применении в хозяйстве одного и того же антибиотика эффект его действия постепенно снижается. Снижение ростового действия антибиотиков коррелирует с накоплением в желудочно-кишечном тракте животных антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизмов. Например, обнаружено, что добавка антибиотиков в корма животных значительно повышает резистентность кишечной палочки к используемым препаратам, наряду с этим снижается их ростстимулирующее действие. Если учесть, что фактор устойчивости к антибиотикам может быть передан другим чувствительным микроорганизмам, в том числе и патогенным, становится ясно, почему это явление вызывает тревогу.

В настоящее время, когда применение антибиотиков широко распространено, устойчивые к ним формы микроорганизмов встречаются очень часто. Устойчивость в той или иной степени у большинства бактерий наблюдается в отношении почти всех применяющихся антибиотиков. Способность микробов образовывать устойчивые штаммы значительно снижает эффективность применения антибиотиков, особенно в медицине [2].

Благодаря многолетним исследованиям ученых стало ясно, что бесконтрольное и широкомасштабное применение антибиотиков в профилактике инфекционных заболеваний животных, а также в качестве ростостимуляторов является неэффективным. Постоянный контакт патогенной микрофлоры с антибиотиками в концентрациях, которые ниже терапевтических, обеспечивает повышение резистентности микрофлоры к антибактериальным препаратам. Это обстоятельство побудило принять ряд ограничений в применении антибиотиков. В 2006 г. ЕС запретил применение кормовых антибиотиков. В частности, при применении кормовых антибиотиков могут наблюдаться пониженная сопротивляемость по отношению к различным заболеваниям и нарушения репродуктивной функции (отсутствие плодовитости, стерильность, пороки развития плода).

Аналогичные исследования были проведены и по применению гормонов в животноводстве. Известно, что натуральные и синтетические гормоны, которые имплантируют сельскохозяйственным животным, имеют структуру, аналогичную человеческим гормонам, и обладают той же активностью. Кроме того, применяемые в животноводстве натуральные гормоны очень трудно обнаружить, поскольку они почти неотличимы от естественных гормонов организма. Конечно, с мясом в организм человека попадает не так много гормонов. Подсчитано, что, съедая в день пол килограмма мяса, человек получает дополнительно порядка 0,5 мкг эстрадиола, что вроде бы незначительно, но, так как все гормоны накапливаются в жире и печени, а те индивиды, кто предпочитает жирное мясо и жареную печенку, получают примерно в 2–5 раз большую дозу гормонов, это уже становится заметно. Как установлено, дозы гормонов, получаемые с мясом, в десятки раз меньше терапевтических. Однако, как показали исследования последних лет, даже небольшое отклонение от нормальной концентрации гормонов может сказаться на физиологии организма, и особенно важно не нарушать гормональный баланс в детском возрасте. У детей, не достигших полового созревания, концентрация половых гормонов в организме близка к нулю и малейшее повышение уровня гормонов уже существенно. Следует также опасаться влияния гормонов на развивающийся плод, ведь в период внутриутробного развития рост тканей и клеток регулируется точно отмеренными количествами гормонов. Известно, что влияние гормонов наиболее критично в особые периоды развития плода – так называемые ключевые точки, когда даже ничтожное колебание концентрации гормонов может привести к непредсказуемым последствиям. Экспериментально показано, что все гормоны, применяемые в животноводстве, хорошо проходят через плацентарный барьер и попадают в кровь плода. Однако, конечно, наибольшее беспокойство вызывает канцерогенное действие гормонов. Известно, что половые гормоны стимулируют рост многих разновидностей опухолевых клеток – рака груди у женщин (эстрадиол) и рака простаты у мужчин (тестостерон).

Учитывая все вышеперечисленное, мы задались целью разработать биологически активное вещество, которое обладает перед синтетическими веществами рядом преимуществ: оно натуральное; является экологически чистым; может применяться у всех видов сельскохозяйственных животных различных половозрастных групп; не накапливается в тканях и органах животных; может быть применено как для стимуляции роста и развития животного, так и для сглаживания протекания вакцинаций и стрессовых ситуаций; способ изготовления данного препарата позволяет обеспечить его длительное хранение без потери имеющихся свойств; этот биологически активный продукт в соответствии с изобретением недорог в получении и не содержит токсичных (канцерогенных) растворителей.

Использование животного и растительного сырья рассматривалось в качестве исходного материала для биогенных стимуляторов еще с 1933 г. основоположником учения о тканевой терапии профессором В. П. Филатовым [3]. В нашей разработке за основу был взят ранее известный способ приготовления стимулятора из инкубированного яйца [5]. Инкубационные яйца мы приобретали в благополучных по всем заболеваниям хозяйствах от здоровых кур с известным рационом. Это делали для того, чтобы предупредить попадание антибиотиков из корма в яйцо. За время инкубации яйца просматривали на овоскопе дважды, плохо развивающиеся эмбрионы отбраковывали. Мы изменили срок инкубации яйца (увеличили до 10 дней), что позволило получить большее количество активных веществ, также нами был изменен способ обработки препарата. Вместо стерилизации нами была применена тиндализация, что позволило сохранить гормоны, витамины и ферменты, которые играют основную роль в стимуляции организма. Также нами была применена лиофильная сушка, которая позволила упростить хранение и транспортировку препарата. После проведенных работ и исследований нами был получен препарат ПИМ (препарат иммунный стимулирующий) [1]. Дальнейшие исследования осуществляли на разных видах лабораторных, домашних и сельскохозяйственных животных.

После проведенных испытаний нами были выявлены следующие свойства препарата.

1. Среднесмертельная доза (LD_{50}) препарата ПИМ при подкожном введении белым мышам составляет 275 000 мг/кг массы тела.

2. Ветеринарный препарат ПИМ, согласно ГОСТ 12.1007-76 (ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности), относится к 4-му классу опасности, т. е. веществу малоопасному, так как при введении в желудок его LD_{50} более 5000 мг/кг массы тела.

3. Длительное подкожное введение препарата ПИМ белым мышам в дозе 1/10 и 1/20 от LD_{50} не нарушает углеводный, жировой и белковый обмен веществ и не вызывает патологоанатомических изменений во внутренних органах экспериментальных животных.

4. При двукратном внутримышечном введении телятам экспериментального образца ветеринарного препарата ПИМ в дозе 0,3–0,5 мл на голову в сочетании с КМП плюс из расчета 1,5 мл на 10 кг живой массы испытуемое лекарственное средство хорошо переносится, не ухудшает общее состояние молодняка, не вызывает осложнений, побочных эффектов и повышает эффективность профилактики железодефицитной анемии.

5. Профилактика и терапия акушерско-гинекологических заболеваний животных.

6. Включение ветеринарного препарата ПИМ в схему лечения ягнят при колибактериозе (внутримышечно в дозе 1,5–2,0) мл на животное, трижды с интервалом 3 дня) способствует сокращению продолжительности болезни, повышению сохранности, нормализации гематологического и биохимического профиля. Парентеральное применение ПИМ позволяет профилактировать акушерско-гинекологические заболевания у коров (задержка последа, субинволюция матки, эндометрит) на 18,0 % и повышать терапевтическую эффективность при лечении коров, больных эндометритом, на 12,0 % по сравнению с контролем. Его можно рекомендовать в качестве иммуномодулирующего средства в комплексные схемы лечения молодняка.

7. При двукратном парентеральном инъектировании поросятам ПИМ (в день введения КМП и через трое суток) в дозе 0,1 и 0,2 мл на инъекцию соответственно усиливает противоанемическое действие КМП.

8. При трехкратном внутримышечном введении ветеринарного препарата ПИМ жеребят в дозе 1,0 мл 1 раз в сутки с интервалом 4–5 дней отмечается повышение устойчивости их организма к болезням пищеварительной системы и нормализация обмена веществ.

9. Ветеринарный препарат ПИМ, назначенный внутримышечно дополнительно в схему лечения собак, больных паровирусным энтеритом, в дозе 0,5 мл дважды с интервалом 3 дня оказывает высокую терапевтическую эффективность.

10. ПИМ, назначенный внутримышечно дополнительно в схему лечения кошек, больных панлейкопенией, в дозе 0,5 мл дважды с интервалом 3 дня оказывает высокую терапевтическую эффективность.

Данные результаты позволяют сделать вывод о возможности применения разработанного нами препарата ПИМ на всех видах животных, как домашних, так и сельскохозяйственных, причем применение на продуктивных животных не накладывает ограничения по мясу и молоку.

Литература

1. Биологически активный продукт для применения в ветеринарии и животноводстве, способ его получения и способы повышения выживаемости, стимуляции роста, иммуностимуляции и повышения общей неспецифической резистентности организма сельскохозяйственных животных : заявка РСТ/RU2012/000578 Рос. Федерация : пат. WO2013019145 A2 Рос. Федерация / Е. А. Моренко, А. В. Пашенко ; дата публ.: 07.02.2013.
2. Гусева, Е. В. Иммуностимуляторы / Е. В. Гусева, В. И. Балихина. – Владимир, 1994. – 34 с.

3. Девришов, Д. А. Разработка и изучение свойств иммуномодуляторов и биологических препаратов для профилактики и лечения болезней молодняка сельскохозяйственных животных : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Д. А. Девришов. – М., 2000. – 53 с.

4. Калашник, И. А. Стимулирующая терапия в ветеринарии / И. А. Калашник. – 2-е изд., перераб. и доп. – Киев : Урожай, 1990. – 160 с.

5. Способ приготовления комплексного иммунного модулятора : заявка 2004105611 Рос. Федерация ; пат. 2264221 Рос. Федерация : МПК А61К35/54, А61Р37/02 / В. А. Погодаев, Е. А. Моренко, Е. А. Киц ; дата публ. 20.11.2005.

Поступила 27.07.2017 г.

УДК 636.087.7

Р. О. Рывак, С. В. Мерзлов

**ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ПОВТОРНОЙ ДОЗЫ
КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ИЗ ПРЕСНОВОДНОЙ ВОДОРОСЛИ
LEMNA MINOR, ОБОГАЩЕННОЙ ЙОДОМ**

*Белоцерковский национальный аграрный университет,
г. Белая Церковь, Киевская обл., Украина*

Введение

В настоящее время научные сообщества и регуляторные агентства развитых стран уделяют огромное внимание определению безопасности и спектра токсического действия лекарственных препаратов, химикатов, продуктов биотехнологии и наноматериалов [1]. Согласно международным требованиям, испытания безопасности (токсичности) различных веществ на живых системах (человек, животные, экосистемы) осуществляются в соответствии с гармонизированными методическими рекомендациями Организации экономического сотрудничества и развития (OECD) и Международной конференции по гармонизации (ICH) [2, 3].

Правила и порядок проведения метода токсичности повторной дозы установлены в OECD Guidelines for the testing of chemicals. Test № 407 «Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents» и утверждены в Европейском Союзе в 2008 г. [4].

Принцип метода заключается в ежедневном введении пероральным путем фиксированными дозами нескольким группам подопытных животных с кормом исследуемой кормовой добавки. Один уровень доз для одной группы скармливается 28 дней. В течение периода применения за животными ведется тщательное ежедневное наблюдение с целью выявления признаков токсичности.

Метод предусматривает проведение физиологических, гематологических, клинических биохимических исследований крови и мочи, макроскопическое обследование при вскрытии, гистологическое обследование и т. п. Кроме того, с помощью метода можно выявлять симптомы иммунологического влияния и токсикологического воздействия на репродуктивные органы [4].

Материалы и методы исследований

Исследование токсичности повторной дозы, согласно OECD Test № 407, проведено в лаборатории контроля кормовых добавок и премиксов Государственного научно-исследовательского контрольного института ветеринарных препаратов и кормовых добавок (г. Львов, Украина), аккредитованной в соответствии с ГСТУ ISO/IEC 17025:2006 Национальным агентством по аккредитации Украины.

Для опыта сформировали три группы здоровых лабораторных крыс с применением случайного отбора. Животных идентифицировали по группам и поместили в клетки за 5 дней до начала проведения исследования с целью их приспособления к соответствующим условиям. Группы животных насчитывали по 10 особей (5 самцов и 5 самок) средней живой массой 175–185 г.

1-я группа животных – контрольная, получала стандартный корм для грызунов; 2-я группа животных – опытная, получала с кормом добавку, содержащую 1537,4 мг/кг йода в сухой биомассе; 3-я группа животных – опытная, получала с кормом добавку, содержащую 2574,5 мг/кг йода в сухой биомассе.

Исследуемую добавку скармливали с кормом 7 дней в неделю в течение 28 дней в дозе из расчета 1000 мг/кг массы тела животного. В течение опыта животные имели постоянный доступ к питьевой воде.

Общие клинические наблюдения осуществляли ежедневно, учитывая состояние здоровья, заболеваемость, гибель, потребление корма и воды, состояние кожи, шерсти и слизистых оболочек, влияние на секреторные и экскреторные функции, слезотечение, размер зрачков, необычные респираторные явления. Учитывали также изменения походки, осанки и реакции на уход, наличие клонических или тонических движений, стереотипы или странное поведение. Всех животных взвешивали один раз в неделю.

У животных опытных и контрольной групп в начале и в конце опыта отбирали образцы крови для проведения морфологических исследований.

Определение концентрации гемоглобина проводили гемоглобин-цианидным методом, общее количество эритроцитов и лейкоцитов – путем подсчета в счетной камере Горяева, дифференциальный подсчет лейкоцитов – путем микроскопической оценки сухих, фиксированных метиловым спиртом и окрашенных красителем Романовского–Гимзы, мазков крови.

Клинические биохимические исследования сыворотки крови проводили по таким показателям, как: общее содержание белка – определяли с помощью рефрактометра ИРФ-22; активность ферментов (АлАТ, АсАТ, ЩФ), содержание

креатинина, мочевины в сыворотке крови – определяли с помощью полуавтоматического биохимического анализатора (HumaLyzer 3000).

В конце опыта был проведен убой животных, осуществлены патологоанатомические исследования внутренних органов, а также определена их масса.

Данные гематологических, биохимических, патоморфологических исследований обрабатывали статистически с вычетом средних арифметических величин (M), средней квадратичной ошибки (m) и степени достоверности разницы (p) между показателями. Статистическую обработку результатов исследований проводили по методике, описанной И. А. Ойвиним (1960), с использованием статистического программного пакета Statistica 5.0 для Windows XP.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований гибели и заболеваний лабораторных животных не наблюдали. Потребление корма и воды крысами опытных групп не отличалось от животных контрольной группы. Состояние кожи, шерсти и слизистых оболочек животных опытных групп были в пределах нормы; покраснения, отека, зуда и т. п. при ежедневном наблюдении обнаружено не было. Неблагоприятного влияния на секреторные и экскреторные функции у животных опытных и контрольной групп не наблюдалось. Слезотечения не отмечалось. Размер зрачков у животных опытных групп был в пределах нормы; необычных респираторных явлений, таких как одышка, кашель и т. п., не наблюдалось. Изменений в походке, осанке и реакции на уход не отмечалось; клонические, тонические движения или странное поведение, не наблюдались.

В начале исследований колебания веса животных не превышало ± 20 % от среднего веса для каждого пола. В течение опыта привесы и колебания живой массы лабораторных животных находились в пределах нормы. Разница по этим показателям между опытными группами и контрольной не превышала 10,0 %.

Таким образом, скормливание лабораторным крысам кормовой добавки из пресноводной водоросли *Lemna minor*, обогащенной йодом, не производило негативного влияния на общие клинические показатели животных, их рост и развитие.

В начале и в конце опыта у животных опытных и контрольной групп были отобраны образцы крови для исследования морфологических и биохимических показателей (табл. 1). В начале опыта у животных 1-й и 3-й групп морфологические показатели крови существенно не отличались, за исключением содержания эритроцитов у животных 2-й группы, которое было несколько ниже в сравнении с другими группами.

В конце опыта морфологическая картина периферической крови существенно не изменилась. Содержание гемоглобина у животных 1-й контрольной группы было на 6,8 % выше в сравнении с его содержанием в начале опыта,

у крыс 2-й и 3-й групп – на 11,3 и 7,6 % соответственно в сравнении с исходным. Содержание гемоглобина у животных опытных групп было в пределах нормы и существенно не отличалось от его содержания в контрольной группе. Наблюдали также незначительное повышение содержания эритроцитов в конце опыта у лабораторных животных 2-й и 3-й опытных групп. В сравнении с контрольной группой этот показатель составлял 1,2 и 4,8 % соответственно. Содержание лейкоцитов в крови крыс всех групп находилось в пределах физиологической нормы и существенно не отличалось от контроля. Лейкоцитарная формула крови опытных белых крыс в токсикологическом опыте была в пределах физиологической нормы.

Таблица 1. Морфологические и биохимические показатели крови белых крыс при изучении токсичности повторной дозы ($M \pm m, n = 10$)

Показатель	1-я контрольная группа		2-я опытная группа		3-я опытная группа	
	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта
Гемоглобин, г/л	103,0 $\pm$ 7,3	110,0 $\pm$ 6,2	97,0 $\pm$ 1,2	108,0 $\pm$ 9,5	105,0 $\pm$ 3,6	113,0 $\pm$ 11,0
Эритроциты, млн/мм ³	8,0 $\pm$ 0,91	8,3 $\pm$ 0,67	7,7 $\pm$ 0,33	8,4 $\pm$ 0,35	8,1 $\pm$ 0,18	8,7 $\pm$ 0,52
Лейкоциты, тис/мм ³	11,1 $\pm$ 1,0	11,6 $\pm$ 1,3	11,9 $\pm$ 1,2	12,2 $\pm$ 0,9	12,0 $\pm$ 1,6	12,3 $\pm$ 1,1
Общий белок, г/л	7,32 $\pm$ 0,14	7,30 $\pm$ 0,20	7,51 $\pm$ 0,12	7,60 $\pm$ 0,16	7,28 $\pm$ 0,17	7,45 $\pm$ 0,23
Аминный азот, ммоль/л	3,15 $\pm$ 0,11	3,26 $\pm$ 0,19	3,36 $\pm$ 0,21	3,40 $\pm$ 0,26	3,29 $\pm$ 0,15	3,37 $\pm$ 0,18
Креатинин, ммоль/л	0,072 $\pm$ 0,009	0,071 $\pm$ 0,005	0,075 $\pm$ 0,005	0,068 $\pm$ 0,004	0,070 $\pm$ 0,003	0,069 $\pm$ 0,003
Мочевина, ммоль/л	5,47 $\pm$ 0,37	5,41 $\pm$ 0,35	5,50 $\pm$ 0,42	5,52 $\pm$ 0,26	5,43 $\pm$ 0,23	5,39 $\pm$ 0,41

Итак, скармливание кормовой добавки из пресноводной водоросли *Lemna minor*, обогащенной йодом, с его содержанием 1537,4 и 2574,5 мг/кг в сухой биомассе в дозе 1000 мг/кг живой массы лабораторных животных, не производило негативного влияния на их морфологические показатели цельной крови.

Результаты биохимических исследований сыворотки крови животных опытных групп в конце опыта показали, что содержание общего белка, независимо от дозы скармливания, было выше, хотя и не достоверно в сравнении с контролем на 4,1 и 2,05 % соответственно по группам. Это свидетельствует о том, что хронических расстройств желудочно-кишечного тракта, болезней печени или токсикозов различной этиологии в организме при скармливании добавки не наблюдали.

В сыворотке крови всех животных, которым скармливали добавку, независимо от дозы йода, повышалось содержание аминного азота: во 2-й группе – на 4,3 %, в 3-й – на 3,8 % в сравнении с показателями животных 1-й группы. Повышение содержания аминного азота в пределах физиологической нормы в течение опыта свидетельствует о положительном влиянии добавки на организм лабораторных животных и не вызывает патологии желудочно-кишечного тракта, жировой дистрофии печени, отравлений.

В конце опыта наблюдали незначительную тенденцию к снижению содержания креатинина и мочевины в сыворотке крови животных опытных и контрольной групп, однако снижение их содержания не имеет клинического значения. По результатам исследований, эти показатели находились в пределах физиологической нормы, однако полученные результаты не были статистически достоверными.

С целью определения степени влияния скармливания добавки на активность ферментов крови в ее сыворотке, в начале и в конце опыта исследовали активность аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы (табл. 2). В конце опыта наблюдали незначительную тенденцию к повышению активности АсАТ и АлАТ сыворотки крови животных 2-й и 3-й групп по сравнению с контролем, хотя в процентном соотношении с началом опыта по группам она находилась на уровне контроля.

Таблица 2. Активность ферментов сыворотки крови белых крыс при изучении токсичности повторной дозы ($M \pm m$, $n = 10$), ммоль/ч/л

Группа	АсАТ		АлАТ		ЩФ	
	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта
1-я	$0,62 \pm 0,07$	$0,63 \pm 0,08$	$0,30 \pm 0,05$	$0,35 \pm 0,06$	$1,33 \pm 0,16$	$1,37 \pm 0,14$
2-я	$0,61 \pm 0,03$	$0,65 \pm 0,06$	$0,37 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,02$	$1,28 \pm 0,15$	$1,31 \pm 0,12$
3-я	$0,59 \pm 0,06$	$0,62 \pm 0,04$	$0,34 \pm 0,07$	$0,39 \pm 0,04$	$1,21 \pm 0,07$	$1,26 \pm 0,10$

Активность ЩФ в сыворотке крови лабораторных животных 2-й и 3-й групп была несколько ниже в сравнении с 1-й группой, однако и в начале опыта наблюдали такую же картину, а полученные данные не были статистически достоверны. Активность ферментов крови всех исследуемых животных находилась в пределах физиологической нормы.

Патологических изменений внутренних органов при патологоанатомическом вскрытии белых крыс, взятых по 3 особи из каждой группы, не обнаружили.

Масса внутренних органов лабораторных животных контрольной и опытных групп находилась в пределах физиологической нормы и существенно не отличалась по группам. Масса щитовидной железы колебалась в пределах 0,019–0,026 г, что свидетельствует об отсутствии ее гипо- или гиперфункции.

Результаты патологоанатомических исследований свидетельствуют, что скармливание кормовой добавки из пресноводной водоросли *Lemna minor*, обогащенной йодом, в течение 28 дней не оказывало отрицательного влияния на исследуемые внутренние органы и системы организма лабораторных крыс.

Заключение

При скармливании кормовой добавки из пресноводной водоросли *Lemna minor*, обогащенной йодом (1537,4 и 2574,5 мг йода в 1 кг сухой биомассы), с кормом в течение 28 дней в дозе из расчета 1000 мг/кг массы тела животного, установлено: общие клинические показатели животных, их рост и развитие

находилась в пределах нормы; скармливание добавки не оказывало негативного влияния на морфологические показатели цельной крови, биохимические показатели и ферментативную активность сыворотки крови, а также на исследуемые внутренние органы и системы организма опытных лабораторных крыс.

Литература и источники

1. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас [та інш.] ; за ред. І. Я. Коцюмбаса. – Львів : Тріада плюс, 2006. – 365 с.
2. Оцінка безпечності кормових добавок, загальні підходи: методичні рекомендації / І. Я. Коцюмбас [та інш.] // Львів, 2011. – 21 с.
3. OECD (1998). Harmonised Integrated Hazard Classification for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances as endorsed [Electronic resource] // 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998. – Part 2. – P. 11. – Mode of access: <http://webnet1.oecd.org/oecd/pages/home/displaygeneral/0,3380,EN-documents-521-14-no-24-no-0,FF.html>. – Date of access: 28.05.2017.
4. OECD Guidelines for the testing of chemicals. – Section 4. – Test № 407 : Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents. – 16 Oct. 2008. – 13 p. – doi:10.1787/9789264070684-en

Поступила 30.05.2017 г.

УДК 636.087.72

В. Г. Тюрин¹, В. Г. Семенов², С. Д. Назаров²

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЦЕОЛИТОВ ПЕРМАИТ И ПЕРМАИК

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
ветеринарной санитарии, гигиены и экологии», г. Москва, Россия
²ФГБОУ ВО «Чувашская государственная сельскохозяйственная
академия», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

Введение

В настоящее время среди незаразных болезней животных и птиц широкое распространение имеют нарушения обменных процессов в организме, связанные с недостатком макро- и микроэлементов, витаминов и т. д., которые должны присутствовать в тканях в определенных концентрациях и соотношениях. При недостатке или избытке некоторых из них нарушаются процессы синтеза биологически активных соединений, наблюдаются расстройства обмена веществ, падение продуктивности, воспроизводства, иммунобиологических свойств.

Для восполнения недостатка минеральных элементов в рационах сельскохозяйственных животных и птиц применяют различные кормовые добавки,

сапропель, премиксы макро- и микроэлементов, мел, известняк и т. д. Однако в современных экономических условиях при удорожании традиционных минеральных источников возникает необходимость в изыскании других более дешевых и эффективных сырьевых ресурсов.

По мнению многих исследователей, одним из альтернативных источников минеральных веществ, способных удовлетворить потребность животных и птицы в макро- и микроэлементах являются природные цеолиты [1, 2, 4]. Использование цеолитов в качестве минеральной добавки, как в чистом виде, так и в сочетании с веществами органической и неорганической природы (карбамидом, синтетическими азотсодержащими веществами, кормовой серой, метионином, прополисом, пробиотиками, препаратом плаценты и т. д.), весьма целесообразно [3, 4].

Учитывая, что эффективность применения цеолитов различных месторождений животным неодинакова, а использование природных ресурсов даже одного и того же месторождения способно давать неоднозначные результаты, возникает необходимость в изучении каждого конкретного месторождения.

В условиях Чувашской Республики было открыто несколько участков природных цеолитов осадочного типа: Первомайский и Айбесинский в Алатырском районе; Русско-Чукалинский, Яблоновский и Ново-Чукалинский в Шемуршинском районе.

Цель работы – изучить биологические свойства цеолитсодержащих препаратов «Пермаит» и «Пермаик» Алатырского месторождения Чувашской Республики.

Материалы и методы исследований

Опыты по изучению токсических свойств проводили на 42 белых беспородных крысах живой массой 180–200 г, на 72 курицах кросса Ломан-браун и на 42 овцах живой массой 25–30 кг. Крысам препарат вводили при помощи шприца с металлическим зондом, курам и овцам – резиновым зондом. Животные были распределены на группы по 6 голов по принципу пар-аналогов. Пермаит и пермаик вводили непосредственно в желудок в виде водной суспензии из расчета, чтобы объем вводимой жидкости не превышал вместимость желудка.

Опыт по изучению хронической токсичности пермаита и пермаика проводили на 16 белых беспородных крысах живой массой 200–220 г и на курицах, которым в течение 24 дней вводили препараты в нарастающей в 1,5 раза дозе каждые 4 дня; первоначальную дозу взяли 2 г/кг.

Местно-раздражающее действие исследовали на 6 беспородных кроликах светлой масти с живой массой 2,5–3,0 кг. За сутки до опыта у животных в области спины (на симметричных относительно позвоночника участках кожи площадью 16 см²) сбривали шерсть и измеряли кутиметром толщину кожной складки. В день опыта препарат в виде кашицы наносили на поверхность кожи

животного из расчета 20 мг/см² площади выстриженного участка (контроль – 0,02 мл дистиллированной воды/см²) и выдерживали в течение 4 ч. По окончании экспозиции остатки препарата удаляли теплой водой с мылом и учитывали реакцию кожи (появление отека, эритем, трещин, корок, выпадение волос, пигментации). Регистрацию изменений кожного покрова проводили через 1 и 18 ч, а также в течение 14 дней после нанесения препарата.

При изучении местного действия пермаита и пермаика на слизистые оболочки глаз в конъюнктивальный мешок левого глаза кроликов вносили препарат в нативном виде в количестве 50 мг, в правый глаз – дистиллированную воду. После нанесения на 1 мин прижимали слёзно-носовой канал. Изменения слизистой оболочки глаза, склеры и роговицы фиксировали визуально сразу после нанесения препарата, через 1 ч и ежедневно в течение 1 недели.

Исследования морфологического состава крови проведены на 18 клинически здоровых белых крысах живой массой 200–220 г при острой интоксикации пермаитом, подобранных по принципу аналогов, которые были разделены на три группы по 6 голов. Животным I группы задавали пермаит в дозе 20 г/кг массы тела, II группы – в дозе 10 г/кг, III группа служила контролем. Пермаит вводили непосредственно в желудок с помощью металлического зонда однократно. Кровь для исследования брали из хвостовой артерии до дачи препарата, а также через 5 ч и 1, 5, 10, 15 сут. после экспериментального отравления.

Для определения эмбриотоксического и тератогенного действия препарата были сформированы три группы белых крыс-самок по 6 голов массой 200–240 г. Крысам I группы вводили пермаит в дозе 2 г/кг живой массы, ежедневно с 1-го дня по 20-е сутки беременности. Крысам II группы вводили пермаит в дозе 10 г/кг на 5-й день беременности однократно. III группа крыс служила контролем. За подопытными животными вели ежедневное наблюдение. Результаты опытов учитывали на 21-е сутки беременности. Крыс убивали эфиром, вскрывали брюшную полость и матку. Обследовали матку с рогами и подсчитывали количество живых, мертвых и резорбцированных плодов. Яичники выделяли в чашку Петри и подсчитывали количество желтых тел беременности в яичнике и плодов в соответствующем роге матки. Затем плоды отделяли от плаценты и околоплодных оболочек, взвешивали их, измеряли краниокаудальный размер и осматривали под лупой, регистрируя внутренние и внешние аномалии.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что дозы препаратов 4–16 г/кг для белых крыс и 10–30 г/кг живой массы для кур и овец не вызывают изменений общего состояния и отклонений поведенческих реакций подопытных животных.

При введении препарата в дозе 20 г/кг у белых крыс отмечалось незначительное угнетение, которое проходило через 15–20 мин. При более высоких дозах крысы были сильно угнетены, они отказывались от корма и воды,

отмечалась взъерошенность шерсти и диарея. Указанные изменения проходили через 6–7 ч, и опытные животные не отличались от интактных.

При введении препарата в дозе 30 г/кг у кур отмечалось кратковременное угнетение общего состояния, увеличение частоты дыхательных движений и сердечных сокращений в течение 5–10 мин. При этом каловые массы приобретали жидкую консистенцию, продолжительность выведения которых составляла не менее 2 ч после затравки. У птиц, затравленных дозой из расчета 60 г/кг, кроме аналогичных признаков отравления регистрировали одышку и потерю аппетита. Период выделения жидких каловых масс составлял 3,5–4,0 ч, по истечении которых общее состояние птицы восстанавливалось и она не отличалась от контрольной группы. За период опыта гибели птицы не зарегистрировано.

У овец при дозах 50 и 60 г/кг отмечено выделение жидких каловых масс, которое быстро проходило и они не отличались от контрольных. При всех испытываемых дозах гибели опытных животных не наблюдалось.

При патологоанатомическом вскрытии слизистая рта и пищевода была бледно-розового цвета, в желудке содержалось большое количество пермита в смеси с кормом. Слизистая желудка, тонкого и толстого отдела кишечника была без видимых изменений, кровеносные сосуды не наполнены. Печень, почки, селезенка и сердце подопытных животных не отличались от таковых интактных.

С учетом вышеизложенного следует заключить, что пермаит и пермаик не обладают токсическим действием.

В ходе опытов по изучению хронической токсичности было установлено, что первые клинические признаки у белых крыс в виде незначительного угнетения появились на 4-й день эксперимента, которое быстро проходило, а общее состояние животного было удовлетворительным. Крысы охотно поедали корм и пили воду.

На 14–15-й день введения взвеси цеолита у животных отмечалось угнетение общего состояния, гиподинамия, взъерошенность шерсти, кратковременный отказ от корма, одышка. Вышеуказанные изменения проходили через 3–4 ч после введения препарата.

На 20–24-й день введения препарата отмечали сильное угнетение общего состояния, отказ от корма и воды, гиподинамию, крысы забивались в угол клетки. В таком состоянии они находились в течение 8–10 ч. За весь период эксперимента гибели подопытных крыс не отмечалось.

При патологоанатомическом вскрытии подопытных крыс слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта была без видимых изменений, в желудке содержался препарат в смеси с кормом. Внутренние органы не отличались от таковых у интактных.

У кур незначительное угнетение и снижение аппетита регистрировали на 17-й день введения препарата в суммарной дозе 158,28 г/кг. После окончания экспериментов эти признаки быстро проходили и опытная птица не отличалась от контрольной. Падежа кур-несушек на протяжении всего эксперимента зарегистрировано не было.

Если общие суммарные дозы для крыс и птицы – 182,92 и 249,4 г/кг соответственно, разделить на их гипотетические LD_{50} – 22 и 30 г/кг, то по формуле Ю. С. Кагана и В. В. Станкевича коэффициент кумуляции составит 8,31, что соответствует 4-й группе, согласно классификации функциональной кумуляции ядов.

При патологоанатомическом вскрытии животных и птиц, убитых в конце опыта, были отмечены те же признаки отравления, что и при исследовании острой токсичности препарата. Кроме того, у подопытных крыс регистрировали увеличение желудка и растяжение его стенок.

В результате эксперимента по оценке местно-раздражающего действия на кожу заметных морфофункциональных нарушений кожного покрова не зарегистрировано. При исследовании местного действия на слизистую оболочку глаза было отмечено, что спустя 1 ч после нанесения препарата у подопытных кроликов появлялась небольшая гиперемия сосудов, которая исчезала через 3–4 ч с момента нанесения. Изменений склеры, отека слизистой оболочки и выделений из глаза обнаружено не было.

Результаты проведенных исследований морфологического состава крови свидетельствуют, что при применении пермаита в дозе 10 г/кг массы тела морфологические показатели крови до 5-го дня оставались практически неизменными. На 10-е сутки после отравления содержание гемоглобина увеличилось на 2,5 % и составило $110,3 \pm 0,62$ г/л; соответственно, количество эритроцитов увеличилось на 5,8 % и $6,35 \pm 0,09$ млн/мкл, количество лейкоцитов увеличилось на 3,9% и составило $15,8 \pm 0,12$ тыс/мкл. Увеличение содержания гемоглобина, количества эритроцитов и лейкоцитов отмечалось и на 15-е сутки после отравления и составило $110,0 \pm 1,08$ г/л (3,2 %), $6,25 \pm 0,03$ млн/мкл (4,2 %) и $15,68 \pm 0,12$ тыс/мкл (3,2 %) соответственно. Указанные изменения были достоверны ($P < 0,05$).

При однократном применении пермаита в дозе 20 г/кг массы тела изменения морфологических показателей крови находились в пределах физиологических норм и оказались статистически недостоверны.

Таким образом, результаты изучения острой токсичности пермаита на крысах и курах-несушках, а также количественные изменения морфологических показателей крови опытных животных свидетельствуют об отсутствии отрицательного воздействия препарата на организм.

В период опыта по определению эмбриотоксического и тератогенного действия препарата пермаита существенных изменений в поведении беременных самок не обнаружено. При внешнем осмотре различий между плодами опытной и контрольной групп не обнаружено, как и аномалий во внутренних органах плодов.

У крыс I группы эмбриональная смертность составила $9,97 \pm 0,30$; II группы – $9,52 \pm 0,95$; в контроле – $9,52 \pm 0,60$. Количество плодов в I группе было $9,30 \pm 0,58$; во II группе – $9,50 \pm 0,70$; в контроле – $9,50 \pm 0,69$; масса плодов составила: $4,07 \pm 0,16$; $4,11 \pm 0,18$; $4,10 \pm 0,17$ г соответственно; краниокаудальный размер плодов достиг $32,70 \pm 0,35$; $33,10 \pm 0,39$; $33,00 \pm 0,39$ мм соответственно ($P > 0,05$).

Заключение

Таким образом, в результате проведенных биологических исследований было выяснено, что цеолитсодержащие препараты Алатырского месторождения Чувашской Республики не обладают токсическими, кумулятивными и раздражающими свойствами, а пермаит не проявляет эмбриотоксического и тератогенного действия.

Литература

1. Андреева, А. Е. Уральские цеолиты – источник макро- и микроэлементов в рационах кур-несушек / А. Е. Андреева, Р. Р. Гадиев // Вестн. Оренбургского гос. ун-та. – Оренбург, 2006. – № 12. – С. 20–22.
2. Григорьева, Т. Е. Применение цеолитсодержащего трепела Чувашской Республики в животноводстве и птицеводстве / Т. Е. Григорьева, Г. И. Иванов // Зоотехния. – М., 1997. – № 17. – С. 14–15.
3. Папуниди, К. Х. Патология обмена веществ и пути его коррекции / К. Х. Папуниди, А. В. Иванов, М. Г. Зухрабов // Вет. врач. – Казань, 2000. – № 1. – С. 62–65.
4. Шадрин, А. М. Природные цеолиты Сибири в животноводстве, ветеринарии и охране окружающей среды / А. М. Шадрин. – Новосибирск, 2004. – 116 с.

Поступила 15.05.2017 г

УДК 578:619

**З. С. Клестова¹, М. И. Марченко¹, А. К. Воронина²,
А. Ю. Мирюта³, Л. И. Пальчиковская³, О. В. Сторожук³,
О. А. Поронник³, И. Ю. Парникоза³, В. А. Кунах³**

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ, ВКЛЮЧАЯ ЭКСТРЕМАЛЬНЫЕ

*¹Государственный научно-контрольный институт биотехнологии
и штаммов микроорганизмов, г. Киев, Украина*

²ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», г. Киев, Украина

³Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, г. Киев, Украина

Введение

Поиск эффективных противовирусных препаратов обусловлен высокой заболеваемостью вирусными инфекциями людей и животных. Среди таких заболеваний находятся и коронавирусные инфекции, которые часто вызывают респираторные инфекции, инфекции ЖКТ, нервной системы (например SARS, MERS и т. д.) и сопровождаются летальным исходом или различными осложнениями, а также значительными экономическими убытками. Вирус имеет

наибольший геном из РНК-содержащих вирусов. Коронавирусы присоединяются к клетке с помощью пепломеров (гликопротеина E2) и проникают в клетку при слиянии вирусной оболочки с плазматической мембраной или с помощью эндоцитоза.

Одной из коронавирусных инфекций является вирусный (трансмиссивный) гастроэнтерит (*Transmissible gastroenteritis*) (ТГС) – высоко контагиозное инфекционное заболевание свиней всех возрастных групп, которое характеризуется острым течением, проявляющееся рвотой, изнурительной диареей, дегидратацией организма, высокой летальностью, особенно среди поросят в первые 10 дней жизни. Болезнь широко распространена во многих странах с развитым свиноводством и наносит большой экономический ущерб.

Проблема создания новых противовирусных препаратов при коронавирусных инфекциях стоит чрезвычайно остро. Использование иммунобиологических препаратов при вирусных инфекциях не всегда эффективно, поэтому разрабатываются различные противовирусные препараты, содержащие как синтетические соединения, так и соединения, полученные из естественного растительного сырья [3, 5]. Причем исследуются растения, произрастающие в разных климатических условиях, в том числе и экстремальных (например, антарктических).

Цель работы – определить способность двух представителей высших растений *Camellia sinensis* и *Deschampsia Antarctica* к ингибции репликации вирусов разных таксономических единиц. Одно из них (*Camellia sinensis*) широко используется в пищу во всем мире и произрастает в различных регионах планеты. В настоящее время главнейшие культуры чая сосредоточены в Китае, Индии, Японии, Индонезии, Южной Америке, Африке (Кении и Натале), на Шри-Ланке (Цейлоне). В Европе чайные культуры растут в России (Краснодарский край), на Кавказе (Грузия, Азербайджан), в южной Англии, Португалии, Сицилии, западной Франции. Второе растение (*Deschampsia Antarctica*) произрастает в экстремальных условиях Антарктики и практически не используется.

Нами приведены результаты применения экстрактов этих двух растений к представителю РНК-содержащих вирусов (семейства *Coronaviridae*), а также к представителю ДНК-содержащих вирусов (бактериофагов, например, фагу T7).

Известно, что химический состав *Camellia sinensis* сложный. Ценность *Camellia sinensis* заключается в том, что применение растения обеспечивает поступление в организм катехинов. В экстрактах зеленого чая обнаружено до 12 катехинов. Наиболее важные среди них (–) – эпикатехин (ЭК) (6,4 % всех катехинов), (–) – эпикатехин-3-галлат (ЭКГ) (13,6 %), (–) – эпигаллокатехин (ЭГК) (19,0 %) и (–) – эпигаллокатехин-3-галлат (ЭГКГ) (59,0 %). Наибольшее значение в обеспечении лекарственных свойств *Camellia sinensis* предоставляется ЭГКГ, который наиболее изучен и является основным компонентом в антивирусной терапии. Все катехины могут действовать как отдельно, так и в синергическом взаимодействии друг с другом.

Содержание разных катехинов может варьировать в растениях, в зависимости от разных географических регионов. Катехины могут изменять физическую структуру мембран [4]. Катехины *Camellia sinensis* обладают протективным действием против ВИЧ, частично опосредованно ингибируя его вирионы. Полифенолы и ЭГКГ (но не ЭКГ) связываются молекулой CD4.

Антивирусные свойства катехинов *Camellia sinensis* описаны по ингибции ВИЧ в культуре периферических клеток крови [4]. Также выявлена высокая эффективность ЭГКГ в ингибции обратной транскриптазы ВИЧ. Антивирусное действие получено относительно вируса Епштейн–Бар, ЭГКГ предотвращал абсорбцию последнего в культуре клеток MDCK [2]. Вещества, присутствующие в *Camellia sinensis*, могут быть активными как по отношению к оболочечным и к безоболочечным вирусам.

Известно, что клеточные системы репликации и транскрипции являются одними из приоритетных клеточных мишеней для антивирусных, антимикробных и противоопухолевых препаратов. Это высокопроизводительный, удобный анализ для тестирования биологически активных природных и синтетических агентов без дополнительной радиоактивной маркировки [1].

Материалы и методы исследований

В работе использованы листья *Camellia sinensis*, а также коммерческий аптечный препарат – пропиленгликолевый экстракт листьев. Экстракты *Deschampsia antarctica* получены из растений, выращенных *in vitro* из семян природных растений Морской Антарктики. Этанольные экстракты (400 мг/40 мл: листья/экстрагент) были предварительно выпарены и остаток разбавлен до первоначального объема стерильной дистиллированной водой.

Культуры клеток: ВНК-21 (культура клеток почки новорожденного сирийского хомяка), для культивирования которой использовали ростовую среду ДМЕМ (1:1) с добавлением 10,0 %-ной сыворотки крови КРС, прогретой при температуре +56 °С в течение 1 ч. Для дальнейшего пересева использовали смесь, состоящую из 0,02 %-го раствора Версена и 0,25 %-го раствора трипсина (5:1). Все культуры клеток были протестированы на отсутствие контаминации микроорганизмами. Культивирование клеток осуществляли в 96-луночных планшетах.

Определение антивирусного действия (на ТГС) производили в системе *in vitro*. Пропиленгликолевый 6,0 %-ный коммерческий экстракт *Camellia sinensis* был взят в количестве 40 мкл/см³. Тест-объектом являлся коронавирус (ТГС) референтный штамм «Чугуэв» (из коллекции Банка штаммов микроорганизмов для ветеринарной медицины Института ветеринарной медицины НААН). Вирус адаптирован нами к культуре клеток ВНК-21 путем серийных пассажей.

Для определения максимально допустимой концентрации (МДК) препаратов использовали также ВНК-21. В опытах применяли не менее чем десять

лунок в планшетах с культурой клеток для каждого разведения препарата в поддерживающей среде, которые инкубировали при температуре +37 °С, 5,0 % CO₂ (96 ч). Ежедневно микроскопировали опытные (с раствором препарата) и контрольные культуры клеток (без препарата).

Степень цитотоксического действия изучали по изменению морфологии клеток (округление, сморщивание клеток, отторжение от поверхности лунок тех клеток, которые подверглись дегенеративным изменениям). За МДК препарата принимали его наибольшую дозу, которая не вызывала дегенерацию клеток.

Антивирусное действие определяли, оценивая снижение цитопатического эффекта активности выбранной модели (вируса ТГС). Опыт проводили следующим образом: на образовавшийся клеточный монослой вносили среду ДМЕМ и предварительно обработанный экстрактом растения вирус (экспозиция – 1 ч). После этого клетки инкубировали при температуре +37 °С в атмосфере 5,0 % CO₂. Клетки контролировали каждые 24 ч, выявляли цитопатическое действие вируса под световым микроскопом.

Результаты и их обсуждение

В выбранной нами культуре клеток мы достигли получения урожая вируса ТГС с высокой инфекционной активностью, что необходимо для проведения испытаний по выявлению противовирусного действия, а именно $7,50 \pm 0,06 \text{ lg ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

Нами была установлена МДК тестируемого препарата, экстракта *Camellia sinensis*, которая составила 40 мкл/см³, (при $n = 10$ для каждой тестируемой концентрации, $P \leq 0,05$). Эти концентрации в культурах клеток через 96 ч не вызывали дегенеративных изменений клеточного монослоя, а культура клеток сохраняла способность к дальнейшему культивированию. Применение высоких концентраций препарата в культуре клеток уже через 24–28 ч приводило к цитотоксическим изменениям в клеточном монослое: клетки округлялись, отделялись от поверхности лунок планшета, менялась в кислую сторону рН среды. Таким образом, высокие дозы тестируемых препаратов обладали цитотоксическим действием. Пропиленгликолевый экстракт *Camellia sinensis* значительно снижал инфекционные свойства вируса ТГС в культуре клеток ВНК-21. Через 96 ч было установлено, что титр инфекционной активности вируса составил $7,5 \pm 0,06 \text{ lg ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ (контроль), в то время как в исследуемых опытных лунках с экстрактом *Camellia sinensis* ингибция титра инфекционной активности вируса была $3,2 \pm 0,04 \text{ lg ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Таким образом, нами впервые было выявлено действие пропиленгликолевого экстракта *Camellia sinensis* на снижение инфекционных свойств коронавируса (см. таблицу).

Предварительные исследования в ферментативных системах транскрипции (модельный транскрипционный комплекс бактериофага Т7) и репликации (ПЦР) *in vitro* продемонстрировали полное ингибирование обеих систем

экстрактом *Camellia sinensis* в концентрации 1,25 мкг/мл, а также выявили эффективное ингибирование синтеза РНК. Экстракты *Deschampsia antarctica* в количестве 2 мкл в 20 мкл реакционной смеси полностью ингибировали синтез РНК. Все полученные результаты подтвердили необходимость дальнейшего исследования испытуемых соединений в качестве потенциальных противовирусных фитопрепаратов.

**Противовирусная активность экстракта *Camellia sinensis* в культуре клеток
ВНК-21 ($n = 21$), $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$**

Тестируемый объект	Культура клеток ВНК-21	
	Титр инфекционной активности коронавируса	Ингибция титра инфекционной активности вируса при добавлении экстракта
Коронавирус + пропиленгликолевый экстракт <i>Camellia sinensis</i>	$7,50 \pm 0,06$	$3,2 \pm 0,04$

Примечание: $P \leq 0,05$.

Выводы

1. При обработке коронавируса пропиленгликолевым экстрактом *Camellia sinensis* в дозе 40 мкл/см³ при экспозиции 1 ч достигается ингибция его инфекционной активности на $3,2 \pm 0,04 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ при тестировании в системе *in vitro* (в культуре клеток ВНК-21).

2. Выявлено полное ингибирование ферментативных систем транскрипции бактериофага Т7 при обработке экстрактом *Camellia sinensis* в концентрации 1,25 мкг/мл.

3. Экстракты *Deschampsia antarctica* в количестве 2 мкл в 20 мкл реакционной смеси полностью ингибировали синтез РНК.

Таким образом, нами впервые доказано эффективное противовирусное действие относительно коронавируса и бактериофага Т7 экстракта *Camellia sinensis*, а также экстрактов *Deschampsia antarctica* относительно бактериофага Т7, что можно использовать в мероприятиях, применяемых в противовирусной терапии.

Литература

1. Антивірусні властивості рослинних флавоноїдів – інгібіторів синтезу ДНК і РНК / Л. Г. Пальчиковська [та інш.] // Biopolymers and Cell. – 2013. – Vol. 2, № 2. – P. 150–156.
2. Epigallocatechin gallate inhibits HBV DNA synthesis in a viral replication-inducible cell line / W. He [et al.] // World J. Gastroenterol. – 2011. – Vol. 17. – P. 1507–1514.
3. Investigation on preventive measures of virus diseases / Z. Klestova [et al.] // J. New Biotechnology : 16th European Congress on Biotechnology, Scotland, Edinburgh, July 13–16, 2014. – Edinburgh, 2014. – Vol. 31. – P. 113.
4. Phase I pharmacokinetic study of tea polyphenols following single-dose administration of epigallocatechingallate and polyphenon E / H. Chow [et al.] // Cancer Epi. Bio. Prev. – 2001. – Vol. 10. – P. 53–58.
5. Searching of capabilities of plants application at viral infections of animals / Z. Klestova [et al.] // Veterinary Biotechnology : Sci. Bull. Bulletin. – 2012. – № 21. – P. 81–91.

Поступила 30.06.2017 г.

А. Э. Высоцкий

ОПТИМАЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ ПОЛУЧЕНИЯ НАДПРОПИОНОВОЙ КИСЛОТЫ В СИСТЕМЕ ПЕРЕКИСЬ ВОДОРОДА–ПРОПИОНОВАЯ КИСЛОТА

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Современный дезинфектант, применяемый в животноводстве, должен обладать высокой эффективностью, низкой токсичностью, экологической безопасностью и способностью к саморазложению. Известно, что высокой антимикробной активностью и широким спектром антимикробного действия обладают дезинфектанты из группы надкарбоновых кислот. Так, на основе надуксусной кислоты синтезированы дезинфектанты «Белстерил» и «Этостерил» (содержание активно действующего вещества (АДВ) – 14,0 %), которые рекомендованы для ветеринарной дезинфекции животноводческих помещений. В настоящее время для ветеринарной дезинфекции созданы и используются стабилизированные композиции перекиси водорода с надкарбоновыми кислотами (надуксусной – «Сандим Д», надмолочной – «НАВИСАН-ВЕТ»).

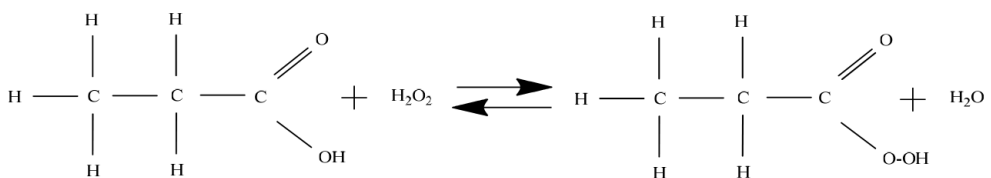
Установлено, что при окислительном разрушении важнейших компонентов клеток и клеточных мембран под действием образующихся радикалов RCOO и RCO производные надкарбоновых кислот являются более активными, чем производные других кислот, благодаря присутствию в алифатической цепи исходной молекулы гидроксильной группы наряду с карбоксильной. При этом такие радикалы более активно взаимодействуют со структурными компонентами клеточных мембран, что, в свою очередь, приводит к нарушению их моделирующей и транспортной функции и усилению бактерицидного эффекта [2].

Перспективным компонентом при создании дезинфектантов является экологически безопасная надпропионовая кислота (НАДП). В опытах на лабораторных животных установлено, что НАДП не является токсичной, мутагенной, канцерогенной и не влияет негативно на репродуктивные органы. В организме НАДП быстро окисляется до пропионовой кислоты, метаболизирует, превращаясь в печени в гликоген, и выводится в виде углекислого газа через легкие и кожу, не накапливаясь в организме [1]. Однако НАДП не является товарным продуктом, поэтому целесообразно было изучить условия ее получения из перекиси водорода и пропионовой кислоты.

Цель работы – определить оптимальные условия максимального выхода НАДП из перекиси водорода и пропионовой кислоты.

Материалы и методы исследований

За основу приготовления дезинфицирующего композиционного состава, содержащего в качестве АДВ НАДП, брали равновесную систему пероксид–пропионовая кислота. Взаимодействие перекиси водорода с пропионовой кислотой методом жидкофазного окисления карбоновых кислот проводили концентрированным раствором пероксида водорода по схеме



Особенности протекания процесса в системе пероксид–пропионовая кислота изучали по характеру изменения с течением времени содержания пероксида водорода и НАДП. Для повышения содержания НАДП и сокращения времени синтеза было исследовано два катализатора: серная и фосфорная кислоты.

Массовую долю пероксида водорода и НАДП в растворе определяли титрометрически. Для определения массовой доли пероксида водорода во взвешенную пробу дезинфектанта массой 0,2 г прибавляли 30 см³ раствора серной кислоты, перемешивали и титровали содержимое колбы раствором марганцовокислого калия до появления не исчезающей в течение 1 мин светло-розовой окраски. Одновременно проводили контрольный опыт в тех же условиях и с тем же количеством реактивов, но без добавления дезинфектанта. Массовую долю пероксида водорода (X) в процентах определяли по формуле

$$X = \frac{0,0017(V - V_1)K \cdot 100}{m},$$

где 0,0017 – масса перекиси водорода, соответствующая 1 см³ раствора марганцовокислого калия концентрации точно $C(1/5 \text{ KMnO}_4) = 0,1$ моль/дм³, г; V – объем раствора марганцовокислого калия концентрации $C(1/5 \text{ KMnO}_4) = 0,1$ моль/дм³, израсходованный на титрование анализируемого раствора, см³; V_1 – объем раствора марганцовокислого калия концентрации $C(1/5 \text{ KMnO}_4) = 0,1$ моль/дм³, израсходованный на титрование контрольного опыта, см³; K – поправочный коэффициент раствора марганцовокислого калия концентрации $C(1/5 \text{ KMnO}_4) = 0,1$ моль/дм³ (0,1 н.); 100 – коэффициент пересчета содержания перекиси водорода, %; m – масса анализируемой пробы, г.

Для определения массовой доли НАДП к содержимому колбы, оттитрованному как описано выше, прибавляли 10 см³ раствора йодистого калия, интенсивно взбалтывали и выдерживали 60 мин в темном месте, затем титровали раствором тиосульфата натрия до обесцвечивания.

Массовую долю НАДП (Y) в процентах определяли по формуле

$$Y = \frac{M(V - V_1)K \cdot 100}{m},$$

где M – масса НАДП, соответствующая 1 см³ раствора тиосульфата натрия концентрации точно $C(1/2 \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1$ моль/дм³, г; V – объем раствора тиосульфата натрия концентрации $C(1/2 \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1$ моль/дм³, израсходованный на титрование анализируемого раствора, см³; V_1 – объем раствора тиосульфата натрия концентрации $C(1/2 \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1$ моль/дм³, израсходованный на титрование контрольного опыта, см³; K – поправочный коэффициент раствора тиосульфата натрия концентрации $C(1/2 \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1$ моль/дм³ (0,1 н.); 100 – коэффициент пересчета содержания надкислоты, %; m – масса анализируемой пробы, г.

За результат анализа принимали среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, абсолютное расхождение между которыми не превышало допустимого расхождения, равного 0,5 %.

Известно, что неорганические кислоты, используемые в качестве катализатора реакции, обладают разной коррозионной активностью. В связи с этим для подбора компонентов с наименее агрессивными свойствами была изучена коррозионная активность по отношению к металлам композиций, образующихся при взаимодействии пропионовой кислоты с перекисью водорода в присутствии серной и фосфорной кислот.

Коррозионную активность композиций на основе пероксида и пропионовой кислоты при катализации синтеза фосфорной и серной кислотами изучали согласно ГОСТ 17332-71, ГОСТ 3.012-73, ГОСТ 9.017-74, ГОСТ 27597-88, ГОСТ 9.908-85, ГОСТ 9.905-82, ГОСТ 9.913-90 и в соответствии с «Методикой определения и оценки коррозионной активности моющих и дезинфицирующих препаратов» [3]. Испытанию были подвергнуты образцы из листовой стали марки Ст3, алюминия марки А и оцинкованной жести. В каждом опыте расходовали по 8–10 пластинок. В качестве контроля использовали средства, наиболее часто применяемые для ветеринарной дезинфекции. Коррозионную активность определяли по изменению веса металла в результате коррозии, отнесенному к единице поверхности (потеря массы, Δm) и единице времени (скорость коррозии, K) при продолжительности испытаний 96 ч. Массу пластинок определяли на весах AdventurerTM OHAUS®.

Результаты и их обсуждение

Химический анализ композиции на основе пероксида и пропионовой кислоты показывает, что с течением времени в результате взаимодействия пропионовой кислоты и перекиси водорода при комнатной температуре образуется НАДП, количество которой через 14 дней реакции составляет 0,07–0,10 %.

Установлено, что НАДП эффективно катализируется как серной, так и фосфорной кислотой (рис. 1). Максимальное содержание надкислоты при +35 °С достигается через 8 сут. и соответствует 7,0–7,7 мас. %.

Скорость коррозии композиции пропионовая кислота–перекись водорода в присутствии катализатора фосфорной кислоты по сравнению с серной и по отношению к образцам из оцинкованной жести в 83,2, стали марки СТ-3 – в 8,6, алюминия – в 46,7 раза меньше и составляет 0,43, 1,6 и 0,03 г/м²·сут соответственно (рис. 2). Таким образом, для катализации реакции пропионовая кислота–перекись водорода целесообразно использовать фосфорную кислоту для получения наибольшего количества НАДП.

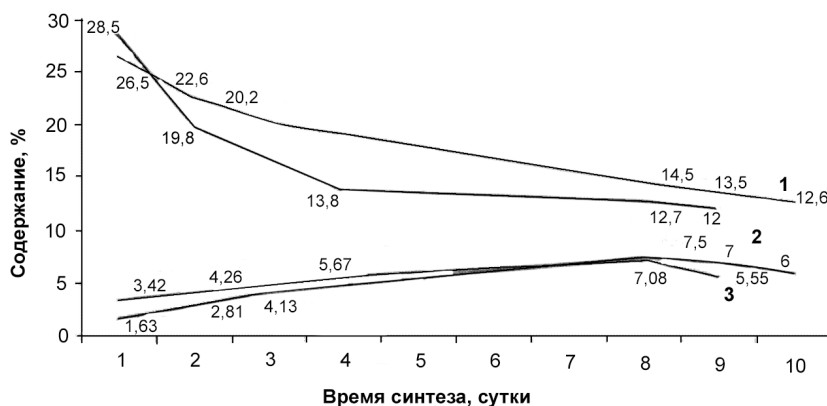


Рис. 1. Содержание НАДП (кривые 3, 4) и перекиси водорода (кривые 1, 2) в системе пропионовая кислота–перекись водорода (молярное соотношение – 1/2) при температуре +35 °С в присутствии серной (кривые 1, 3) и фосфорной кислоты (кривые 2, 4)

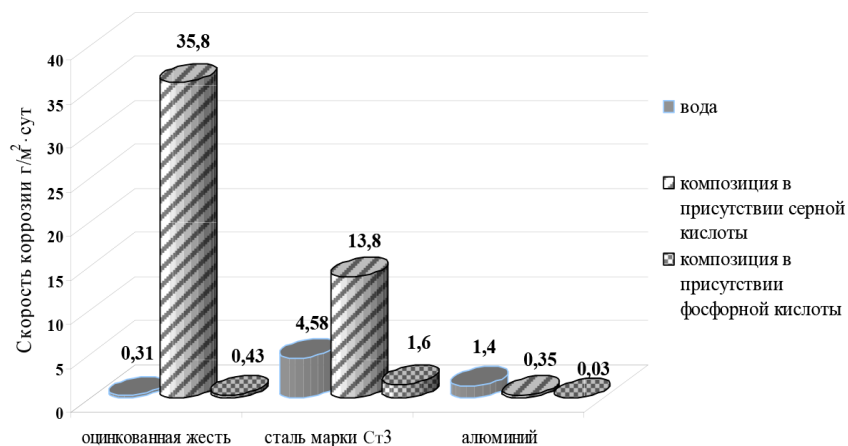


Рис. 2. Коррозионная активность композиций пропионовая кислота–перекись водорода в присутствии серной и фосфорной кислоты на фоне воды по отношению к металлам при экспозиции 96 ч

Заключение

Таким образом, проведение синтеза в системе пероксид–пропионовая кислота при температуре +35 °С в присутствии катализатора фосфорной кислоты приводит к достижению химического равновесия через 8 сут. и является наиболее оптимальным; конечный выход НАДП соответствует 7,0–7,4 мас.%, а перекиси водорода – 12,7–14,5 мас.%. Полученная композиция обладает наименее агрессивными свойствами по отношению к металлам.

Литература

1. Высоцкі, А. Э. Канструяванне дэзінфектанта на аснове надпрапіенавай кіслаты / А. Э. Высоцкі, У. А. Шаблюўскі, А. В. Тучкоўская // Экологія і жывотны свет. – 2015. – № 1. – С. 6–14.
2. Композиционные пероксидные дезинфицирующие средства широкого спектра действия / В. О. Шабловский [и др.] // Свиридовские чтения : сб. ст. – Минск : БГУ, 2014. – Вып. 10. – С. 134–147.
3. Методика определения и оценки коррозионной активности моющих и дезинфицирующих препаратов. – М., 1974. – 15 с.

Поступила 11.04.2017 г.

УДК 579.63:636.09:579.84

Н. А. Пустовит, Н. Г. Пинчук, А. П. Кудрявченко

ИССЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗОЛЯТОВ КАМПИЛОБАКТЕРИЙ К ДЕЙСТВИЮ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ

*Государственный научно-контрольный институт биотехнологии
и штаммов микроорганизмов, г. Киев, Украина*

Введение

Кампилобактериозы – группа зоонозных бактериальных инфекций, вызываемых бактериями, принадлежащими к роду *Campylobacter*. У человека протекают преимущественно как острые кишечные инфекционные заболевания, характеризуются поражением желудочно-кишечного тракта с тенденцией к генерализации процесса с развитием септицемии, поражением различных органов и систем. Возбудители кампилобактериоза широко распространены в природе. Как комменсалы желудочно-кишечного тракта они присутствуют в кишечнике практически всех известных теплокровных животных и птиц, которые являются природным резервуаром кампилобактеров, а также в воде открытых водоемов, контаминированных фекалиями животных и птиц [1].

Кампилобактериоз характеризуется полиморфностью клинических проявлений инфекции. Наиболее распространенная форма течения инфекции –

энтероколит. Также могут наблюдаться системные поражения (септицемии; менингиты; поражения сердечно-сосудистой системы (тромбофлебиты, миокардиты, эндокардиты), почек и мочевыводящих путей, печени и желчного пузыря, нервной системы (парезы, параличи, полиневриты, опорно-двигательного аппарата (артриты, синовиты, бурситы); неонатальная патология (септические аборты и преждевременные роды, сопровождающиеся развитием септицемии, менингитов и энтеритов у новорожденных) [1].

Кампилобактеры, являясь микроаэрофилами, не обладают способностью длительно выживать во внешней среде при контакте с кислородом, однако они хорошо сохраняются в водной среде при низких температурах [1].

Заболеваемость кампилобактериозом регистрируется повсеместно в виде спорадических случаев, эпидемических очагов с пищевым и водным путем передачи инфекции. В некоторых странах кампилобактеры являются ведущим этиологическим агентом острых кишечных инфекций, опережая сальмонеллы и шигеллы [1].

Через растущее признание того, что *Campylobacter* является важным кишечным патогеном человека, нами было изучено влияние широко используемых дезинфицирующих средств на жизнеспособность этого возбудителя [2].

Основным путем передачи инфекции в организме человека является потребление контаминированного или недоваренного мяса (особенно птицы), непастеризованного молока или молочных продуктов, а также загрязненной воды. Заражение возможно также через контакт с инфицированными животными или фекалиями [3].

Антисептики и дезинфицирующие средства широко используются в современном ветеринарном производстве. Они являются неотъемлемой частью ветеринарной практики и помощью в профилактике клинических и субклинических болезней.

Для дезинфекции применяют целый ряд дезсредств, однако большинство из них обладают узким спектром бактерицидных свойств и являются высокотоксичными [4].

Цель работы – исследовать влияние дезинфицирующих средств на устойчивость изолятов *Campylobacter*.

Материалы и методы исследований

Оценку эффективности дезинфицирующих средств проводили согласно Руководству Р 4.2. 2643-10 «Методы лабораторных исследований и испытаний медико-профилактических дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности» [5].

Влияние дезинфицирующих средств на выделенные изоляты кампилобактерий было исследовано с помощью электронного микроскопа.

Результаты и их обсуждение

Бактерицидную активность определяли суспензионным методом, а все рабочие растворы готовили *ex tempore* [5].

Для приготовления растворов при проведении **суспензионного метода** в различных концентрациях дезраствор разводили или растворяли в стерильной воде, затем по 4,5 см³ разливали в стерильные пробирки, в которые добавляли 0,5 см³ суспензии тест-микроорганизмов, содержащей $1 \cdot 10^9$ КОЕ/см³, и тщательно перемешивали.

Через определенные интервалы времени (в зависимости от экспозиции дезсредства) по 0,5 см³ суспензии «тест-микроорганизм + ДЗ» добавляли к 4,5 см³ соответствующего нейтрализатора, вновь тщательно встряхивали и оставляли на 5 мин. Затем по 0,5 см³ суспензии вносили в пробирку с 4,5 см³ стерильной питьевой воды, после чего 0,1 см³ с этой пробы вносили в пробирки с 5 см³ жидкой и на поверхность твердой питательной среды.

В контрольных опытах вместо растворов дезинфектантов использовали стерильную питьевую воду, а посевы делали в среду без нейтрализации. Результаты опыта оценивали по присутствию или отсутствию роста микроорганизмов в жидкой и на твердой питательной среде.

Полученные результаты сравнивали с контролем опыта, которым являлся посев тест-микроорганизмов в питательную среду без добавления дезинфектанта или субстанции.

Эффективным считали дезинфектант, если трижды повторенный опыт за определенный промежуток времени дает отрицательный результат (отсутствие роста микроорганизмов) при наличии обычного роста тест-культуры в контроле (см. таблицу).

Таблица 1. Исследование устойчивости выделенных изолятов к действию образцов дезинфицирующих средств

Дезинфектант	Концентрация	Экспозиция	Рост микроорганизмов			
			I	II	III	IV
1. Санфорт Дез	0,5 %	10–12 ч	–	–	–	–
2. Агрижерм	0,5 %	10–12 ч	–	–	–	–
3. Виросан-макс	0,5 %	10–12 ч	–	–	–	–
4. ТН-4	0,5 %	10–12 ч	–	–	–	–
5. Биоконтакт+	0,5 %	10–12 ч	–	–	–	–
6. Dr. Phosteril D25	2,0–5,0 %	15–20 мин	–	–	–	–
7. Вип-2	3,0–5,0 %	20–30 мин	–	–	–	–
8. Вип-1	0,5–1,0 %	15 с	–	–	–	–
		20 с	–	–	–	–
		25 с	–	–	–	–
9. Dr. Cip Flux	0,5–1,0 %	15 с	–	–	–	–
		20 с	–	–	–	–
		25 с	–	–	–	–

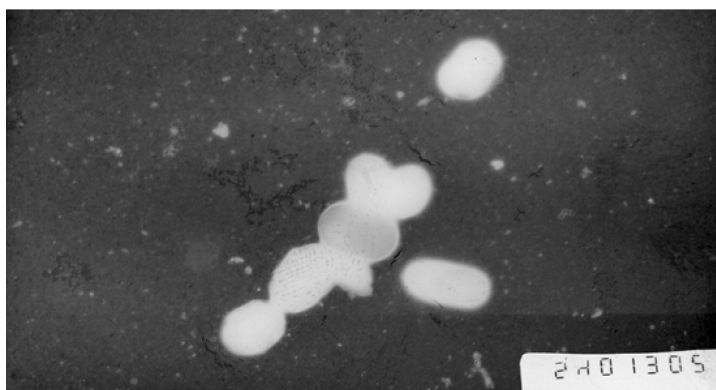
Дезинфектант	Концентрация	Экспозиция	Рост микроорганизмов			
			I	II	III	IV
10. Виркон-С	1,0 %	1 ч	–	–	–	–
11. *Пентасол 237	1,0 %	12 с	+	+	+	+
		40 с	+	+	+	+
		48 с	+	+	+	+
		3 мин	+	+	+	+
12. Перфект Алка	1,0 %	12 с	+	+	+	+
		40 с	+	+	+	+
		48 с	+	+	+	+
13. *Ансеп Сип	1,0 %	12 с	+	+	+	+
		40 с	+	+	+	+
		48 с	+	+	+	+
		3 мин	+	+	–	–
14. ПЗ Топакс 66	2,0 %	20 мин	–	–	–	–
15. Фоам 136	2,0 %	20 мин	–	–	–	–
16. Гипохлорид натрия	1,0 %	20 мин (190 мл активного хлора)	–	–	–	–
17. ПЗ Аксония Актив 150	0,02 %	110 мин	–	–	–	–
	0,2 %	20 мин	–	–	–	–
	1,0 %	20 мин	–	–	–	–
18. ПЗ-Маносан (моющее средство для рук)	1 мл	5 с	+	+	+	+
19. *ПЗ-Манодез (дезинфектант для рук)	1 мл	5 с	+	+	+	+
20. Фоам 2000	2,0 %	20 мин	–	–	–	–
21. Topactive Des	2,0 %	20 мин	–	–	–	–
22. Des Foam PAA	2,0 %	20 мин	–	–	–	–

П р и м е ч а н и е: I – *Campylobacter jejuni* 1; II – *Campylobacter jejuni* RS17; III – *Campylobacter fetus* RS17/1; IV – *Campylobacter coli* 2; рост микроорганизмов: + – наблюдается; – – отсутствует.

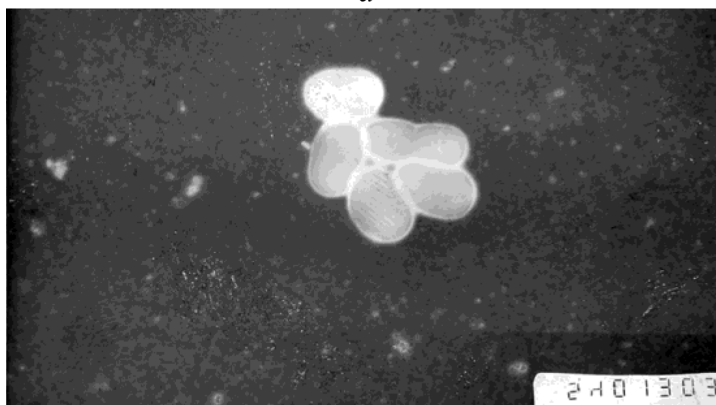
Результаты исследований позволяют сделать следующие выводы:

- 1) Пентасол 237 в концентрации 1,0 % при экспозиции 12, 40, 48 с и 3 мин проявлял бактериостатическое действие в отношении выделенных изолятов;
- 2) Перфект Алка в концентрации 1,0 % при экспозиции 12, 40, 48 с проявлял бактериостатическое действие в отношении выделенных изолятов;
- 3) Ансеп Сип в концентрации 1,0 % при экспозиции 12, 40, 48 с проявлял бактериостатическое действие в отношении выделенных изолятов, а в экспозиции 3 мин – к *Campylobacter jejuni* 1 и *Campylobacter jejuni* RS17;
- 4) ПЗ-Маносан при экспозиции 5 с проявлял бактериостатическое действие в отношении выделенных изолятов.
- 5) ПЗ-Манодез при экспозиции 5 с проявлял бактериостатическое действие в отношении выделенных изолятов.

Влияние дезинфицирующих средств на выделенные изоляты кампилобактерий отражено на рисунке.



а



б

Электронная микроскопия *Campylobacter jejuni* (а) и *Campylobacter fetus* (б)

Заключение

Дезинфектанты «Пентасол 237», «Перфект Алка», «Ансеп Сип», «ПЗ-Маносан», «ПЗ-Манодез» проявляют бактериостатическое действие по отношению к выделенным изолятам кампилобактерий.

Литература и источники

1. Об утверждении СП 3.1.7.2816-10 «Профилактика кампилобактериоза среди людей» [Электронный ресурс] : постановление Гл. гос. санитар. врача Рос. Федерации, 29 дек. 2010 г., № 188 // Рос. газета. – Федерал. вып. № 5454 (78). – 2011. – 13 апр. – Режим доступа: <https://rg.ru/2011/04/13/sanpin-dok.html>. – Дата доступа: 25.06.2017.
2. Detection of *Campylobacter jejuni* in dairy farm environmental samples using SYBR green real-time polymerase chain reaction / S. E. Murinda [et al.] // *Foodborne Pathogens and Disease*. – 2005. – Vol. 2, № 2. – P. 160–168.
3. Prevalence and numbers of *Campylobacter* on broiler carcasses collected at rehang and post-chill in 20 U. S. processing plants / S. F. Altekruse [et al.] // *Journal of Food Protection*. – 2007. – Vol. 70. – P. 1556–1560.

4. Phenotypes and genotypes of campylobacter strains isolated after cleaning and disinfection in poultry slaughterhouses / P. Maris [et al.] // Veterinary Microbiology. – 2008. – № 128. – P. 313–326.

5. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности: руководство : Р 4.2.2643-10 : [утв. Гл. гос. санитар. врачом Рос. Федерации 01.06.2010]. – [Изд. офиц.]. – М. : Роспотребнадзор, 2011. – 614 с. – (Гос. система санитар.-эпидемиол. нормирования Рос. Федерации. 3.5 : Дезинфектология).

Поступила 30.06.2017 г.

УДК 619:616.98:636.5

Г. Х. Азаев

ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ В ПТИЦЕВОДСТВЕ

*ВПО ФГБОУ «Дагестанский аграрный университет имени М. М. Джамбулатова»,
г. Махачкала, Дагестан*

Введение

Под экономической эффективностью понимают сумму предотвращенного ущерба в животноводстве, экономию трудовых и материальных затрат и экономии в смежных отраслях производства.

В условиях современной ветеринарии, когда ветеринарный специалист проводит большое количество лечебных и профилактических мероприятий, возникает необходимость обосновывать экономическую целесообразность их проведения. Для этого в ветеринарии пользуются методикой определения специальных экономических показателей, позволяющих выявить эффективность затрат труда ветеринарных специалистов, экономическую целесообразность использования тех или иных средств и методов борьбы с различными болезнями животных. Многообразие объектов ветеринарной деятельности, разные направления ветеринарной работы требуют учитывать объемную систему экономических показателей и методов их расчета.

Наиболее широко в отечественной ветеринарной практике применяют такие иммуномодуляторы, как гамавит, фоспренил, ронколейкин, имунофан, нуклеинат натрия (чаще в составе гамовита), гликопин, риботан и некоторые другие.

В этой связи нами проведен опыт по применению имунофана, гамавита и фоспренила для стимуляции резистентности и развития молодняка птицы бройлерной породы в производственных условиях на ООО «Батыр» (Республика Дагестан), а также определена экономическая эффективность применения этих препаратов в птицеводстве.

Материалы и методы исследования

Указанные иммуномодуляторы выпускаются отечественными производителями и допущены для использования в животноводстве. Однако их экономическая эффективность в промышленном птицеводстве еще недостаточно изучена.

Опыт был поставлен на ООО «Батыр» (с. Ботаюрт, Хасавюртовский р-н, Республика Дагестан) в цехе № 2 с общим поголовьем 40 000 голов молодняка кросса «Кобб-500» американской породы, с 18 июня по 2 августа 2014 г., до 45-дневного возраста. Для проведения опыта по принципу аналогов были подобраны четыре группы однодневных цыплят по 60 голов, три из которых были опытными, а четвертая – контрольной. Опытным цыплятам проводили иммунизацию против болезни Ньюкасла вакциной Авиныю («Мериал», Франция), которую вводили интраназально с применением иммуномодуляторов, а контрольным цыплятам делали вакцинацию без применения препаратов. Повторно вакцинацию провели на 16-й день методом выпаивания. Гамавит и фоспренил, т. е. первую и вторую группу, выпаивали в течение трех дней в разведении 5 мл на 1 л воды, в третьей группе имунофан вводили каждому цыпленку подкожно в разведении 2 мл на 30 мл инъекционной воды, один раз в дозе 0,5 мл после первой вакцинации, согласно инструкции по применению. Как в контрольной, так и в опытных группах соблюдалась вся технологическая цепочка.

Результаты и их обсуждение

Одним из критериев оценок состояния резистентности организма является показатель сохранности цыплят. В то же время он также отражает у них уровень развития иммунной системы, одновременно повышая сопротивляемость и устойчивость к инфекционным заболеваниям и к факторам внешней среды.

Результаты наблюдений в течение 45 дней за сохранностью цыплят в первой и второй опытных группах, которым с суточного возраста выпаивали гамавит и фоспренил после вакцинации – в среднем по 15 мл раствора, а также третья группа, которой был введен имунофан, показали, что указанные препараты способствовали увеличению сохранности во всех опытных группах по сравнению с контрольной. В конце опыта сохранность составила 100 %, когда как в контрольной – 96 %. В то же время технологические факторы не оказали существенного влияния на сохранность как контрольной, так и опытных групп молодняка птицы в указанный период его развития.

В таблице представлены данные привеса цыплят в течение 45 дней до их убоя. Взвешивание производили на 15-й, 30-й и 45-й день. Наибольший эффект привеса был получен при использовании иммуномодуляторов. Из трех примененных препаратов наиболее оптимальным оказался гамавит. Разница живой массы в контрольной и опытной группах составила более 500 г. Таким образом, полученные данные свидетельствует о том, что оптимальным иммуномодулятором в условиях данного производства является гамавит.

Средняя масса привеса цыплят-бройлеров, г

Группа	15-й день	30-й день	45-й день
Контрольная	402	1400	2490
1-я (гамавит)	430	1700	3030
2-я (фоспренил)	420	1630	2900
3-я (имунофан)	416	1650	2960

Средняя рыночная стоимость препаратов на 1 августа 2014 г. в Республике Дагестан была: для гамавита – 82 руб., фоспренила – 164 руб., имунофана – 63 руб. При этом средняя стоимость 1 кг живой массы птицы в Республике Дагестан в это время составляла 70 руб.

Экономическая выгода была определена на примере препарата «Имунофан» из расчета на поголовье одного цеха в количестве 10 тыс. голов по следующей схеме.

Экономический ущерб от падежа и вынужденного убоя животных определяли по формуле

$$Y_1 = MЖЦ - C_{\phi},$$

где Y_1 – ущерб от падежа и вынужденного убоя взрослых животных, руб.; M – число павших животных, гол.; $Ж$ – средняя живая масса одного животного, кг; $Ц$ – средняя цена единицы продукции, руб.; C_{ϕ} – фактическая денежная выручка от реализации продуктов убоя или трупного сырья, руб.

Значит,

$$Y_1 = 400 \cdot 2,5 \cdot 70 = 70\,000 \text{ (руб.)}.$$

В современных условиях учитывают следующие виды затрат на ветеринарные мероприятия: материальные затраты; расходы на оплату труда, единый социальный налог, амортизацию основных средств ветеринарной службы, ремонт основных средств ветеринарной службы; затраты по организации производства и управлению; прочие расходы.

К материальным затратам относят стоимость использованных биопрепаратов, медикаментов, дезинфицирующих средств, перевязочных материалов, инструментов, оборудования, топлива, электроэнергии, горюче-смазочных материалов, строительных материалов (израсходованных на ветеринарно-санитарный ремонт, сооружение временных убойных площадок, пастеризационных помещений, пропускных пунктов, шлагбаумов, дезбарьеров), транспортные услуги сторонних организаций по перевозкам ветеринарных грузов, стоимость тары и упаковки.

Материальные затраты (M_3) в данном случае рассчитывают по формуле

$$M_3 = MЦ + Ц_1,$$

где M – количество использованных материалов; $Ц$ – цена единицы использованных материалов, руб.; $Ц_1$ – иные затраты, руб.

Тогда

$$M_3 = 200 \cdot 63 + 20\,000 = 32\,600 \text{ (руб.)}$$

К расходам на оплату труда (ОТ) относят: основную и дополнительную заработную плату ветеринарных работников, других рабочих и служащих ветеринарного учреждения, а также подсобных рабочих, привлекаемых к проведению ветеринарных мероприятий; натуральную оплату труда; надбавки и доплаты к тарифным ставкам и окладам; премии; стоимость бесплатно предоставляемых коммунальных услуг, спецодежды, спецобуви, оплату очередных и дополнительных отпусков, выплаты по районным коэффициентам, надбавки к зарплате, предусмотренные за непрерывный стаж работы в районах Крайнего Севера, оплату отпусков студентам вечерних и заочных вузов и т. д.

$$ОТ = З_{пл} + О_{тн} + Пр + С_{ку} + О_{от},$$

где $З_{пл}$ – заработная плата основная, дополнительная, руб.; $О_{тн}$ – оплата натуральная, руб.; Пр – премии, руб.; $С_{ку}$ – стоимость бесплатной спецодежды и спецобуви, руб.; $О_{от}$ – оплата очередных и дополнительных отпусков, руб.

Таким образом,

$$ОТ = 6000 + 1000 + 1500 + 1500 + 2000 = 12\,000 \text{ (руб.)}$$

Ущерб, предотвращенный в результате профилактики и ликвидации болезней животных (Π_y) в хозяйстве, определяют по разнице между потенциальным и фактическим экономическим ущербом:

$$\Pi_{y1} = M_o K_3 K_{п} Ц - У,$$

где M_o – общее поголовье восприимчивых или наличных животных в хозяйстве; K_3 – коэффициент заболеваемости животных; $K_{п}$ – удельная величина потерь основной продукции в расчете на одно заболевшее животное, кг (ц); Ц – средняя цена единицы продукции, руб.; У – фактический экономический ущерб, руб.

Вычисляем:

$$\Pi_{y1} = 10\,000 \cdot 0,4 \cdot 3 \cdot 70 - 70\,000 = 770\,000 \text{ (руб.)}$$

Экономический эффект, получаемый в результате проведения ветеринарных мероприятий ($\mathcal{E}_в$), находим по формуле

$$\mathcal{E}_в = \Pi_y + Д_c + \mathcal{E}_3 - З_в,$$

где Π_y – ущерб, предотвращенный в результате проведения ветеринарных мероприятий, руб.; $Д_c$ – стоимость, полученная дополнительно за счет увеличения количества и повышения качества продукции, руб.; $\mathcal{E}_3$ – экономия трудовых и материальных затрат в результате применения более эффективных ветеринарных мероприятий, руб.; $З_в$ – затраты на проведение ветеринарных мероприятий, руб.

Тогда

$$\mathcal{E}_в = 770\,000 + 0 + 0 - 44\,600 = 725\,400 \text{ (руб.)}.$$

При этом экономическая эффективность оздоровительных мероприятий ($\mathcal{E}_р$) в расчете на 1 руб. затрат

$$\mathcal{E}_р = \mathcal{E}_в : \mathcal{Z}_в,$$

где $\mathcal{E}_в$ – экономический эффект, руб.; $\mathcal{Z}_в$ – затраты на проведение ветеринарных мероприятий, руб.

Значит,

$$\mathcal{E}_р = 725\,400 : 44\,600 = 16,26 \text{ (руб.)}.$$

Заключение

Проведенные исследования по применению иммуномодуляторов, таких как имунофан, гамавит и фоспренил, в промышленном птицеводстве показали их экономическую эффективность в сохранении популяции цыплят и повышении привеса молодняка птицы.

Литература

1. Методология применения иммуномодуляторов в промышленном птицеводстве / Ю. С. Аликин [и др.] // Био. – 2004. – № 4. – С. 2–4.
2. Применение фоспренила при откорме цыплят-бройлеров / А. А. Головешенко [и др.] // Ветеринария. – 2002. – № 12. – С. 14–16.
3. Влияние иммунобиостимуляторов на продуктивность несушек / А. В. Деева [и др.] // Ветеринария. – 2006. – № 6. – С. 8–9.
4. Применение иммуномодуляторов на продуктивных животных / А. В. Деева [и др.] // Ветеринария. – 2008. – № 9. – С. 8–12.
5. Никитин, И. Н. Организация и экономика ветеринарного дела / И. Н. Никитин, В. А. Апалькин. – М. : Колос, 2006. – С. 368.
6. Никитин, И. Н. Практикум по организации ветеринарного дела и предпринимательству / И. Н. Никитин. – М. : Колос, 1998. – С. 200.
7. Санин, А. В. Применение иммуномодуляторов при вирусных заболеваниях мелких домашних животных / А. В. Санин // Рос. вет. журн. – 2005. – № 1. – С. 38–42.

Поступила 30.06.2017 г.

А. В. Тучковская¹, В. О. Шабловский¹, А. Э. Высоцкий²

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И БИОЦИДНЫЕ СВОЙСТВА СРЕДСТВА ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО «ВАЛИСАН»

¹Научно-исследовательский институт физико-химических проблем
Белорусского государственного университета, г. Минск, Беларусь

²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
имени С. Н. Вышелесского», г. Минск, Беларусь

Введение

Большую опасность для промышленного животноводства и птицеводства представляют инфекционные заболевания. В случае их появления срочно необходимо проводить не только комплекс терапевтических мероприятий, но и организационно-хозяйственные мероприятия, в частности дезинфекцию. Проведение дезинфекции гарантирует обеззараживание среды обитания животных, т. е. эффективное воздействие на факторы передачи инфекции, что приводит к уменьшению потерь и качества продукции, причем часто это уменьшение исчисляется не только в процентах, но и в разгах.

В настоящее время для дезинфекции животноводческих и птицеводческих помещений традиционно применяют химические средства, такие как гидроксид натрия (каустическая сода), формальдегид (формалин, параформальдегид), препараты хлора, которые не всегда эффективны, агрессивны, обладают коррозионным действием на оборудование, экологически опасны, трудоемки в применении, а зачастую представляют опасность отравления для животных и человека.

Создание малоопасных высокоэффективных дезинфектантов, не загрязняющих окружающую среду и лишенных вышеперечисленных недостатков, является актуальной задачей для ветеринарной науки и практики. В последнее время для локальной дезинфекции предложены препараты нового поколения, не только обладающие широким спектром вирулицидного и бактерицидного действия, но и являющиеся малотоксичными для сельскохозяйственных животных и человека. Перспективным в этом направлении можно назвать разработанный сотрудниками НИИ ФХП БГУ и РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» (ТУ ВУ 100050710.089) препарат «Валисан», представляющий собой порошок серовато-бежевого цвета с характерным запахом отдушки, содержащий в своей основе композицию неорганических фосфатов, сульфатов и алюмосиликатов [2].

Механизм действия данного препарата заключается в том, что алкилдиметилбензиламмоний, проникая в клетки микроорганизмов, блокирует матричную функцию ДНК возбудителей микробной, грибковой или вирусной этиологии и вызывает их гибель.

Основными компонентами данного материала (98,0–99,0%) служат вторичные сырьевые ресурсы промышленных предприятий Республики Беларусь, а также дешевое минеральное сырье, добываемое на ее территории. Количество добавок, входящих в состав валисана, закупаемых по импорту, составляет 1,0–2,0 % и на себестоимость дезинфектанта существенного влияния не оказывает [1].

Характерной особенностью препарата является его дешевизна при высокой эффективности применения. По этой причине потребителями валисана могут быть все предприятия сельскохозяйственного профиля, в том числе фермерские хозяйства. Это позволит повысить эффективность и конкурентоспособность сельскохозяйственного производства, в частности увеличить сохранность поголовья скота и птиц.

Разработанный дезинфектант имеет высокие технические показатели:

- низкую норму расхода – 50–100 г/м²;
- высокую степень снижения концентрации аммиака и сероводорода в окружающей среде – 95,0–98,0 %;
- увеличение сохранности поголовья при использовании препарата – до 12,0 %.

Механизм действия препарата заключается в том, что алкилдиметилбензиламмоний, проникая в клетки микроорганизмов, блокирует матричную функцию ДНК возбудителей микробной, грибковой или вирусной этиологии и вызывает их гибель.

Кроме того, неорганические составляющие препарата, являясь сорбентами газов, сами по себе также угнетающе действуют на микроорганизмы, вплоть до полной их гибели.

При изучении эффективности действия дезинфицирующего порошка «Валисан» на наиболее распространенных возбудителей инфекционных заболеваний, находящихся на тест-объектах при прямом контакте, установлено, что он эффективен в отношении широкого спектра возбудителей бактериальных (включая туберкулез) и грибковых заболеваний, обладает адсорбирующим действием. Равномерное посыпание контаминированных суспензией *E. coli* ATCC 11229, *Salmonella sues*, *Pasterella multocida*, *Haemophilus parasuis* и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 тест-объектов, обеспечивало 100 %-ное обеззараживание при норме расхода 50 г/м². При дезинфекции тест-объектов, контаминированных суспензиями *Mycobacterium avium* и *Mycobacterium fortuitum* 342, обеззараживание отмечалось при применении валисана в дозе 100 г/м² [2].

При изучении острой токсичности и опасности отравления установлено, что при однократном внутрижелудочном введении белым мышам препарата в дозе 5000 мг/кг массы тела, он вызывал у лабораторных животных незначительные признаки интоксикации, которые исчезали через 4–5 ч, при этом гибели животных в течение всего периода наблюдения не наблюдалось. Результаты опыта показали, что среднесмертельная доза дезинфектанта «Валисан»

для белых мышей составляет ≥ 5000 мг/кг (малоопасные вещества по ГОСТ 12.1.007-76).

При исследовании возможного раздражающего или повреждающего действия на кожу и развитие контактного неаллергического дерматита, установлено, что 10-кратные аппликации суспензии препарата на выстриженные участки спины белых крыс не вызывали признаков раздражения. После смывания препарата кожа оставалась естественной окраски, состояние подопытных животных не отличалось от контрольной группы, которым по вышеуказанной схеме наносилась дистиллированная вода. В течение всего периода наблюдения подопытные животные оставались активными, хорошо поедали корм. По выраженности кожно-раздражающего действия дезинфектант «Валисан» относится к 1-му классу (0 баллов).

Инстилляцией 50 мкл (1–2 капли) суспензии препарата в нижний конъюнктивальный свод глаза кроликов сопровождалась выраженным птозом, слезотечением, усилением сосудистого рисунка конъюнктивы, проходящим в течение 1–2 ч. Органических нарушений целостности слизистых оболочек при их детектировании щелевой лампой в условиях суправитального окрашивания 2,0 %-ным раствором флюоресцина не выявлено. Признаков раздражения слизистых оболочек глаз у всех животных опытной группы спустя сутки наблюдения не установлено. Раздражающее действие валисана на слизистую оболочку глаза кролика отсутствовало (0 баллов).

При эпикутанной резорбции суспензии валисана гибели опытных животных не отмечалось. Признаков раздражения кожи, изменений физиологических показателей состояния в динамике и изменения объемов хвостов у животных опытной группы по сравнению с контрольной не установлено. К 30-му дню эксперимента установлено статистически достоверное снижение уровня лимфоцитов к 15-му дню, нормализующееся к окончанию исследований, эозинофилия в крови.

Однократное воздействие препарата на неповрежденные кожные покровы не вызывает раздражения кожи. При эпикутанной резорбции суспензии валисана гибели опытных животных не отмечалось, они оставались активными, охотно поедали корм. Средняя смертельная доза при нанесении на кожу для белых крыс составляет ≥ 2500 мг/кг (малоопасные вещества по ГОСТ 12.1.007-76). Можно констатировать, что валисан при многократном введении в желудок обладает общерезорбтивным действием.

При выдерживании мышей в течение 2 ч в аэрозольной камере (экзикатор), на дно которой был насыпан порошок валисана, и последующем 30-минутном проветривании не было отмечено каких-либо изменений в поведении и клиническом состоянии животных [3].

Производственные испытания валисана были проведены на свиноферме и молочно-товарной ферме СПК «Черневский» Дрибинского района Могилевской области. Помещения подвергли дезинфекции методом посыпания поверхностей порошком с нормой расхода 50 г/м². Спустя 2 ч было отобрано по

10 объединенных проб смывов с каждого помещения для определения качества дезинфекции. В процессе дезинфекции и после нее будет проведена органолептическая оценка воздуха животноводческого помещения и определена его влажность.

Качество дезинфекции поверхностей помещений было признано удовлетворительным (рост санитарно-показательных микроорганизмов отсутствовал в 90,0 % исследованных проб).

Выводы

1. Валисан в дозе 50 г/м² и экспозиции не менее 2 ч можно рекомендовать для ветеринарной дезинфекции при бактериальных и вирусных инфекциях методом равномерного посыпания объекта. При туберкулезе и грибковых заболеваниях валисан целесообразно применять как бактериостатическое средство в дозе 100 г/м² в 2–3 приема локально.

2. Порошок дезинфицирующего средства «Валисан» в условиях однократного внутрижелудочного воздействия относится к композиции 4-го класса (малоопасные вещества), согласно ГОСТ 12.1.007-76.

3. В условиях однократного воздействия на неповрежденные кожные покровы лабораторных животных препарат «Валисан» не обладает раздражающим действием. Всасываясь через неповрежденные кожные покровы лабораторных животных, при многократном воздействии препарат не вызывает токсических проявлений на уровне смертельных эффектов.

4. При воздействии на слизистые оболочки препарата «Валисан» отмечается слабое раздражающее действие, исчезающее через 1–2 ч. При многократном воздействии на кожу валисан оказывает резорбтивное действие с преимущественным влиянием на функцию селезенки и печени.

5. Препарат «Валисан» не обладает сенсibiliзирующей активностью и не представляет потенциальной аллергенной опасности для животных и контактирующих с ним лиц.

6. Препарат «Валисан» можно использовать в присутствии животных для дезинфекции методом посыпания при инфекционных заболеваниях, возбудители которых относятся к 1-й и 2-й группам устойчивости к дезинфицирующим средствам.

Таким образом, разработанный дезинфицирующий препарат «Валисан» является высокоэффективным средством для обеззараживания животноводческих помещений, относится к веществам 4-го класса опасности (вещества малоопасные), что в значительной степени облегчает и удешевляет его применение на объектах животноводства. Особенности данного препарата: экологическая безопасность, отсутствие раздражающих свойств и аллергенности, ярко выраженные сорбирующие свойства и возможность применения в присутствии животных.

Литература

1. Высоцкий, А. Э. Бицидная активность препарата «Валисан» для дезинфекции объектов животноводства / А. Э. Высоцкий // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сб. науч. тр. : в 2 ч. / Мин-во сельского хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, Гл. упр. образования, науки и кадров, Бел. гос. с.-х. акад. – Горки, 2007. – Вып. 10, ч. 2 / редкол.: М. В. Шалак (гл. ред.) [и др.]. – С. 257–264.
2. Дезинфицирующий препарат : пат. 11411 Респ. Беларусь, МПК (2006) A01N33/00, C1 / В. О. Шабловский, А. В. Тучковская, Н. Н. Васюченко, Т. В. Романий, А. Э. Высоцкий ; заяв. учр. Бел. гос. ун-та «Науч.-исслед. ин-т физ.-хим. проблем» (ВУ). – № a20061341 ; заявл. 26.12.2006 ; опубл. 30.12.2008 // Афіцыйны бюл. / Нац. Цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2008. – № 6 (65). – С. 76.
3. Лысенко, А. П. Новые средства для ветеринарной дезинфекции при туберкулезе / А. П. Лысенко, Б. Я. Бирман, М. Н. Гутырчик // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии : сб. науч. тр. / ФГБНУ «ВНИИВСГЭ». – М., 2004. – Т. 116. – С. 60–64.

Поступила 29.08.2017 г.

УДК 619:618.19-002:636.2-08

Т. Н. Каменская, С. А. Лукьянчик, О. В. Хендогина

ЭКСТРАФИТОМАСТ – АНТИСЕПТИК НА ОСНОВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ТРАВ ДЛЯ ОБРАБОТКИ КОЖИ ВЫМЕНИ И СОСКОВ

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Стратегическая цель развития агропромышленного комплекса – достижение и поддержание продовольственной безопасности страны. Основной отраслью сельского хозяйства Республики Беларусь является животноводство. За прошедшее пятилетие в нашей стране установилась в целом устойчивая тенденция роста сельскохозяйственного производства. В связи с этим возрастают требования к качеству и критериям безопасности производимой продукции в соответствии с мировыми стандартами, начиная с фермы [4].

На повышение эффективности молочного скотоводства большое влияние оказывает производство молока высокого качества, однако заболевания молочной железы у лактирующих животных его снижают, и, что наиболее важно, маститные коровы могут стать источником токсикоинфекций у людей через молоко и молочную продукцию.

Значительный урон здоровью теплокровных организмов на нашей планете нанесли люди путем массового использования в деловой практике антибиотиков и др. Бактерии все лучше приспосабливаются к антибиотикам, становятся

все более резистентными. Если выживет хотя бы одна популяция микроорганизмов опасных бактерий, то она займет все пространство, так как лечение антибиотиками способствовало уничтожению симбиотической микрофлоры, а возникший дисбаланс организма причиняет вред иммунной системе [1, 3].

В результате длительного применения антибиотиков и им подобных химических препаратов вырабатывается устойчивость к ним микроорганизмов. Лечение при этом бывает недостаточно эффективным. Болезнь в ряде случаев переходит в хроническую форму и приводит к атрофии долей вымени. Кроме того, при применении антибиотиков остаточные их количества выделяются с молоком в течение 3–7 дней после обработки животных, что требует ограничений в реализации такой продукции и связано с экономическими потерями. Несоблюдение этих требований создает угрозу здоровью людей и приводит к нарушению технологических процессов при изготовлении молочных продуктов.

Учитывая побочные действия ряда традиционных противомаститных препаратов, содержащих антибиотики, целесообразно проводить профилактические мероприятия с целью нераспространения мастита среди дойного стада.

Вымя коров является благоприятной питательной средой для множества микроорганизмов. Проявление их чрезмерного роста на коже разнообразно и крайне нежелательно [2, 5].

При дезинфекции поверхностей кожи вымени и сосков происходит максимальное уничтожение микробов, что может создать нишу для развития через определенное время новых колоний микроорганизмов. При санитарной обработке поддерживается на минимальном уровне число микробов, так называемое бактериостатическое действие, что предотвращает постепенное неконтролируемое разрастание колоний микроорганизмов. Стерилизация кожи вымени и сосков животных нежелательна, так как нормальная микрофлора (резидентная, которая постоянно живет на коже вымени, не вызывая заболеваний) препятствует колонизации кожи другими, гораздо более опасными микроорганизмами. Это так называемая транзиторная микрофлора (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Salmonella* spp. и другие грамотрицательные бактерии, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, ротавирусы и пр.), которая сохраняется на коже короткое время, но, если целостность кожи нарушается, что часто возникает при машинном доении, может вызвать инфекционное заболевание. В благоприятных условиях каждые 20–30 мин количество микробов удваивается, их колонии растут с геометрической прогрессией. Находясь на поверхности соска, микроорганизмы по сосковому каналу попадают внутрь вымени, что может явиться причиной заболевания маститом [1, 3–5], поэтому многие ученые придают санитарной обработке вымени коров исключительно важное значение, как для снижения бактериальной обсемененности молока, так и для профилактики маститов.

В данном направлении ведутся научные работы и в РУП «Институт экспериментальной санитарии имени С. Н. Вышелесского». В лаборатории экологии

и ветеринарной санитарии разработан антисептик «Экстрафитомаст» на основе лекарственных трав, органической кислоты и глицерина. Он представляет собой жидкость коричневого цвета, однородную, без примесей, имеется небольшой осадок, легко взбалтывающийся при встряхивании, концентрация водородных ионов (рН) – $4,75 \pm 0,3$ ед. LD₅₀ антисептика «Экстрафитомаст» составляет 10 500 мг/кг: согласно ГОСТ 12.1.007-76 «ССВТ Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» он относится к 4-й группе опасности – малоопасным веществам. Антисептик не обладает хронической токсичностью, не вызывает раздражения слизистой оболочки глаза и кожи кроликов, не обладает сенсибилизирующими свойствами на кожу лабораторных животных.

Материалы и методы исследования

Опыты по эффективности обработок антисептиком «Экстрафитомаст» вымени коров после доения проводили на молочных комплексах сельскохозяйственных предприятий Минского и Узденского районов Минской области и Сенненского района Витебской области.

Объектами исследований служили кожа сосков вымени коров и молоко.

Перед постановкой опытов по эффективности антисептика «Экстрафитомаст» был изучен микробный фон в исследуемых дойных стадах коров: у подопытных коров были отобраны смывы с кожи вымени, которые в дальнейшем высевали на дифференциально-диагностические среды общепринятыми методами с целью изучения микробной обсемененности, видового состава микрофлоры и ее патогенности.

В дальнейшем для изучения эффективности антисептика «Экстрафитомаст» для санации кожи вымени коров формировали группы коров: контрольную и опытную. Перед постановкой опытов по эффективности обработок вымени подопытных животных, а также по окончании опытов, коров подвергали диагностическим исследованиям на маститы быстрым маститным тестом с использованием диагностикума «Беломастин» и молочно-контрольной пластинки.

В опытной группе антисептик «Экстрафитомаст» наносили ежедневно сразу же после доения, в контрольной группе использовали однохлористый йод, согласно инструкции по применению. Продолжительность опыта составила 30 дней. Во время опыта проводили контроль микробного обсеменения вымени микрофлорой, для чего отбирали смывы с кожи сосков вымени коров в начале и в конце опыта, определяли общую микробную обсемененность методом последовательных разведений и посевов на МПА в бактериологические чашки, учитывали наличие патогенных форм бактерий. У подопытных животных в начале опыта и по окончании обработок были отобраны пробы молока для исследований на качественные показатели (плотность, кислотность, соматические клетки, микробную обсемененность, ингибирующие свойства

с использованием культуры *St. Termophilus*). По окончании опыта провели анализ по заболеваемости коров субклиническими маститами.

Исследования качественных показателей, биологической ценности и безвредности проб молока у подопытных животных проводили согласно действующим в Республике Беларусь нормативам.

Результаты и их обсуждение

При изучении степени распространенности маститов в трех хозяйствах Минской и Витебской областей установлено, что из 1650 обследованных коров поражение молочной железы субклиническим маститом было зарегистрировано у 510 (30,9 %) животных и клинически выраженными формами – у 21 (1,29 %) животного.

Общая микробная обсемененность кожи вымени коров до доения составляла в среднем по трем хозяйствам (КОЕ/см²) в пастбищный период 580 100 ± 35 487, в стойловый – 786 667 ± 38 720, после подмывания и доения 20 933 ± 3720 и 23 767 ± 2755 соответственно (табл. 1). Из смывов с кожи вымени в 65,0 % случаев выделяли кокковую микрофлору (*Streptococcus dysgalactia*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*), 21,5 % случаев приходилось на другие виды бактерий (*E. coli* – 1,8 %, *Proteus vulgaris* – 5,5 %, *Candida* – 3,9 %, остальное – сапрофитная микрофлора). В пробах было выделено от двух до пяти культур одновременно.

Таблица 1. Результаты бактериологических исследований смывов и молока, количество соматических клеток

Район	КОЕ/см ³ смыва с кожи вымени		Количество микробов в молоке, КОЕ/см ³	Соматические клетки, клеток в 1 см ³
	до обмывания вымени	после обмывания вымени		
Пастбищный период				
Узденский	600 300	19 200	12 000	340 000
Сенненский	620 000	25 300	13 400	350 000
Минский	520 000	18 300	9 500	290 000
Всего:	580 100 ± 35 487	20 933 ± 3720	11 633 ± 1239	326 667 ± 21 296
Стойловый период				
Узденский	790 000	22 300	18 200	480 000
Сенненский	850 000	28 500	14 900	500 000
Минский	720 000	20 500	16 800	450 000
Всего:	786 667 ± 38 720	23 767 ± 2755	16 633 ± 1006	476 667 ± 15 488

В опытных группах обработку антисептиком «Экстрафитомаст» проводили после каждого доения путем окунания сосков вымени в специальный стаканчик с антисептиком, в контрольных – вымя коров обрабатывали после доения 0,5 %-ным водным раствором однохлористого йода согласно наставлению. За животными велось постоянное наблюдение. В каждой группе брали смывы

с кожи сосков вымени пяти коров, давших отрицательную реакцию на мастит, перед доением, после подмывания водой, а также через 20 мин, 6 и 12 ч после обработки. Определяли общую микробную обсемененность в расчете на 1 см² поверхности методом последовательных разведений с посевом на мясопептонный агар.

В результате было установлено, что количество микроорганизмов на коже сосков вымени коров (клеток/см²) в начале опыта составляло 588 167, через 20 мин после обработки антисептиком «Экстрафитомаст» – 400, через 6 ч после обработки – 3860 и через 12 ч перед очередным доением – 6183. Применение для санации вымени однохлористого йода обеспечивало уменьшение микроорганизмов с 581 830 до 27 117 клеток/см³ (табл. 2). В начале опыта с вымени выделяли кокковую микрофлору, при постановке биопробы выделенная микрофлора была патогенна для лабораторных животных. Применение антисептиков снижало общее число микроорганизмов на кожи вымени коров и держало его на низком уровне до очередного доения, выделенная микрофлора при этом не обладала патогенностью.

Таблица 2. Общая микробная обсемененность кожи до и после обработок антисептиками, клеток/см³

Антисептик	Перед обработкой	После обработки		
		через 20 мин	через 6 ч	через 12 ч, перед очередным доением
«Экстрафитомаст»	588 167 ± 11 200	400 ± 10	3 860 ± 520	6 183 ± 700
Однохлористый йод	581 830 ± 14 100	600 ± 75	14 200 ± 630	27 117 ± 1 500

Отмечено защитное влияние антисептика «Экстрафитомаст» на кожу вымени коров: сухости, раздражения, трещин и других повреждений не обнаружено. Однохлористый йод такими защитными свойствами не обладал, антимикробное действие его на коже было более кратковременным. Противопоказаний и отклонений не установлено.

Обработка сосков вымени антисептиком «Экстрафитомаст» обеспечила снижение заболеваемости коров субклиническими маститами в 2,3–2,6 раза, в контрольной группе – в 1,4–1,7 раза (табл. 3).

У подопытных животных изучали микрофлору паренхимного, соскового и сборного молока от клинически здоровых и положительно реагирующих на мастит коров по общепринятым методикам.

Наиболее значительными источниками микробной обсемененности молока оказались коровы, больные субклиническими формами мастита. В секрете таких коров обнаруживали 3 500 000–9 000 500 КОЕ/см³. Из пораженных четвертей молочной железы выделяли патогенные стафилококки в 22,0 % случаев, эшерихии коли – в 8,0 % случаев.

При исследовании качественных показателей сборного молока было отмечено, что применение антисептика «Экстрафитомаст» для санации кожи сосков вымени коров не оказывает отрицательного влияния на качество молока. Присутствие в молоке ингибирующих веществ отмечено не было (табл. 4).

**Таблица 3. Заболеваемость коров маститами
при использовании антисептиков**

Показатель	Район, где находится хозяйство	Опытная группа				Контрольная группа			
		начало опыта		конец опыта		начало опыта		конец опыта	
		гол.	%	гол.	%	гол.	%	гол.	%
Всего	Узденский	200	100	200	100	170	100	170	100
	Сенненский	300	100	300	100	300	100	300	100
	Минский	190	100	190	100	195	100	195	100
Субклинический мастит	Узденский	40	20,0	15	7,5	40	23,5	25	14,7
	Сенненский	70	23,0	30	10,0	69	23	40	13,3
	Минский	38	20,0	15	7,9	41	21	30	15,3
Клинический мастит	Узденский	2	1,0	1	0,5	1	0,58	1	0,58
	Сенненский	4	1,3	2	0,7	3	1,0	2	0,7
	Минский	2	1,05	2	1,05	3	1,5	2	1,02

**Таблица 4. Физико-химические показатели сборного молока подопытных животных
(средние данные по хозяйствам)**

Показатель	Группа			
	опытная		контрольная	
	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта
Плотность, кг/м ³	1,028	1,028	1,028	1,027
Кислотность, °Т	16	16	16	18
Соматические клетки, тыс/см ³	300	100	300	420
Общая бактериальная обсемененность	11 000	500	11 500	11 300
Биологическая ценность	97	104	100	100

Пр и м е ч а н и е: ингибирующие свойства – отрицательные.

Молоко от подопытных коров по бактериальной обсемененности, содержанию соматических клеток, плотности, кислотности и органолептическим показателям соответствовало сорту экстра, ингибирующих свойств молока при обработке антисептиком выявлено не было.

Выводы

1. При диагностических исследованиях коров трех хозяйств Минской и Витебской областей субклинические маститы выделялись в 30,9 % случаев, клинический мастит – в 1,29 % случаев.

2. Ежедневная обработка вымени коров антисептиком «Экстрафитомаст» в течение 30 дней способствовало снижению субклинических маститов у коров в сравнении с первоначальными показателями в 2,3–2,6 раза, тогда как в контрольной группе этот показатель снижался в 1,4–1,7 раза.

3. В смывах с вымени подопытных животных в начале опыта выделялись *Staphylococcus aureus* (патогенный), *Streptococcus faecalis*, *E. coli* (патогенный), *Staphylococcus saprofiticus*, грибы.

4. Качественные показатели молока соответствовали молоку высшего сорта, биологическая ценность после обработок коров в течение 30 дней раствором аналита составила 104,0 относительно контрольной группы.

Литература

1. Ивашура, А. И. Система мероприятий по борьбе с маститами коров / А. И. Ивашура. – М. : Росагропромиздат, 1991. – 239 с.
2. Карташова, В. М. Гигиена получения молока / В. М. Карташова. – Ленинград : Колос, Ленинградское отд-ние, 1980. – 181 с.
3. Коган, Г. Ф. Маститы и санитарное качество молока / Г. Ф. Коган, Л. П. Горинова. – Минск : Ураджай, 1990. – 136 с.
4. Кузнецов, А. Ф. Гигиена содержания животных : справочник / А. Ф. Кузнецов. – 2-е изд., стереотип. – СПб. : Изд-во «Лань», 2004. – 640 с.
5. Стейниер, Р. Мир микробов : в 3 т. / Р. Стейниер, Э. Эдельберг, Дж. Ингрэм ; пер. с англ. – М. : Мир, 1979. – Т. 1. – С. 35; Т. 2. – С. 42–44, 69–87, 308.

Поступила 28.06.2017 г.

УДК 615.331.036.8:616.3-053:636.2

**В. А. Трушкин, С. П. Ковалев, А. А. Воинова,
И. В. Никишина, Г. С. Никитин**

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРОБИОТИКА «ВЕТОМ 1.1» ПРИ ЭНТЕРИТАХ У ТЕЛЯТ

*ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия
ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия*

Введение

Энтериты новорожденных телят по-прежнему остаются одной из самых распространенных болезней молодняка на животноводческих комплексах Северо-Западного региона. Основными причинами энтеритов являются нарушения технологии содержания и кормления телят [2, 4].

В качестве экологически безопасных терапевтических и профилактических средств при энтерите телят ветеринарные специалисты предпочитают использовать пробиотические препараты. Использование пробиотиков улучшает пищеварение у животных, способствует лучшему усвоению питательных веществ рациона, повышению иммунобиохимического статуса и продуктивности сельскохозяйственных животных [1, 3]. Одним из таких пробиотиков

является отечественный препарат «Ветом 1.1», 1 г которого содержит $1 \cdot 10^6$ КОЕ живых микробных клеток штамма бактерий *Bacillus subtilis* ВКПМ В-10641, модифицированного плазмидой, синтезирующей интерферон α -2 лейкоцитарный человеческий, а также вспомогательные вещества – сахар или сахарную пудру и крахмал.

Цель исследований – определить терапевтическую эффективность пробиотического препарата «Ветом 1.1» при энтеритах у телят.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в ЗАО «Красносельское» Ломоносовского района Ленинградской области Российской Федерации.

Объектом исследований служили новорожденные телята с признаками энтерита, подобранные по принципу аналогов и разделенные на две группы.

В первую подопытную группу ($n = 10$) входили больные энтеритом телята, которые получали лечение по схеме, предусмотренной в хозяйстве (диетотерапия и инъекции энроксила 5,0 %-го).

Во второй подопытной группе ($n = 10$) были больные энтеритом животные, которым на протяжении 10 дней один раз в день вместе с кормом задавали пробиотик «Ветом 1.1» из расчета 75 мг на 1 кг живой массы тела.

В процессе опыта учитывали сроки выздоровления телят, больных энтеритом, а также динамику показателей среднесуточных привесов, температуры тела, частоты пульса и дыхания животных.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований было отмечено, что температура тела у телят обеих подопытных групп в 1–2-дневном возрасте достоверно не отличалась ($P > 0,05$) и составляла $39,5 \pm 0,05$ °C и $39,2 \pm 0,04$ °C соответственно. В возрасте 10 дней температура тела у телят первой подопытной группы была достоверно ниже ($P < 0,001$) по сравнению с температурой тела животных, которым задавали пробиотик «Ветом 1.1», и составляла $38,0 \pm 0,08$ °C и $38,9 \pm 0,08$ °C соответственно. При дальнейших наблюдениях достоверных изменений данного показателя не наблюдалось.

Частота пульса у животных обеих подопытных групп в первые дни жизни не имела достоверных отличий ($P > 0,05$). Однако частота пульса у животных первой подопытной группы в возрасте 10 дней достоверно отличалась ($P < 0,05$) от частоты пульса телят второй подопытной группы, составляя $123,5 \pm 2,5$ и $111,6 \pm 1,9$ ударов в минуту соответственно. К 20-дневному возрасту пульс телят урежался, но все же у животных первой подопытной группы его частота оставалась достоверно выше ($P < 0,01$) по сравнению с уровнем пульса у телят второй подопытной группы – в среднем $106,3 \pm 1,4$ и $96,5 \pm 1,3$ ударов в минуту соответственно. К месячному возрасту частота пульса у животных обеих групп достоверно не отличалась.

У 10-дневных телят, получавших лечение, предусмотренное в хозяйстве, частота дыхания составляла $53,1 \pm 0,8$ дыхательных движений в минуту, а у телят, которые получали пробиотический препарат, этот показатель достигал $40,5 \pm 1,7$ дыхательных движений в минуту ($P < 0,01$). К 20-дневному возрасту частота дыхания у животных первой подопытной группы составляла $35,5 \pm 1,3$ дыхательных движений в минуту, что достоверно было больше ($P < 0,01$), чем у телят второй подопытной группы, у которых частота дыхания находилась на уровне $27,2 \pm 1,6$ дыхательных движений в минуту. У 30-дневных телят обеих групп достоверных отличий в отношении частоты дыхания не наблюдалось.

Следует отметить, что у животных, которым не давали пробиотический препарат, продолжительность болезни была в среднем $10,4 \pm 0,9$ дней, а у животных, получавших «Ветом 1.1», – $6,5 \pm 1,1$ дней.

Изучая показатели массы тела телят, установили, что средняя масса животных обеих групп при рождении достоверно не отличалась. Однако в десятидневном возрасте телята первой подопытной группы весили в среднем $35,0 \pm 1,2$ кг, что достоверно ниже массы тела животных второй подопытной группы – $39,0 \pm 0,5$ кг. К 20-му дню жизни, телята, получавшие препарат «Ветом 1.1», достигали массы тела $42,8 \pm 0,8$ кг, в то время как животные первой подопытной группы лишь $36,8 \pm 0,7$ кг ($P < 0,05$). К 30-дневному возрасту телята второй подопытной группы достигали массы тела $51,6 \pm 1,1$ кг, а переболевшие энтеритом телята из первой подопытной группы имели массу тела $45,4 \pm 0,6$ кг ($P < 0,05$).

За счет низких показателей среднесуточных привесов у животных первой подопытной группы наблюдалось отставание в росте, и к двухмесячному возрасту их масса была в среднем $62,4 \pm 0,8$ кг, а у телят, получавших пробиотик, средний вес составлял $72,5 \pm 0,8$ кг ($P < 0,01$).

Заключение

В результате проведенных исследований была доказана терапевтическая эффективность использования пробиотика «Ветом 1.1» в комплексе лечебно-профилактических мероприятий при энтерите телят по сравнению с традиционным лечением, принятым в хозяйстве. Одним из наиболее характерных показателей положительного влияния пробиотика на организм телят является уменьшение продолжительности течения болезни и, как следствие, более высокие показатели среднесуточных привесов животных.

Литература

1. Карпуть, И. М. Эффективность пробиотиков в профилактике болезней органов пищеварения и гиповитаминозов / И. М. Карпуть, Н. И. Астапович, М. П. Бабина // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии : материалы Междунар. конф. – Минск, 2004. – С. 234–236.

2. Ковалев, С. П. Гематологические показатели крови телят с тяжелыми формами диспепсии до и после применения иммуностропных препаратов / С. П. Ковалев, Ю. В. Тулев, С. А. Артемьева // Новые фармакологические средства в ветеринарии : материалы 7-й межгос. межвуз. науч.-практ. конф. – СПб., 1995. – С. 57–58.

3. Трушкин, В. А. Использование пробиотика «Авена» для профилактики энтерита телят / В. А. Трушкин, И. В. Никишина, О. Ф. Шумаков // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – СПб., 2014. – № 3. – С. 256–258.

4. Яшин, А. В. Мембранное пищеварение у телят, больных токсической диспепсией / А. В. Яшин // Актуальные проблемы физиологии пищеварения и питания : материалы Всерос. конф. с междунар. участием, посвящ. 80-летию акад. А. М. Уголева (1926–1991), Санкт-Петербург, 3–5 окт. 2006 г. – СПб., 2006. – С. 117–118.

Поступила 08.06.2017 г.

УДК 636.084.56:636.087.7

Р. В. Русаков

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК В ОТНОШЕНИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ ФУНКЦИЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*ФГБНУ «Зональный научно-исследовательский институт
сельского хозяйства Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого»,
г. Киров, Россия; ФГБОУ ВО «Вятская государственная
сельскохозяйственная академия», г. Киров, Россия*

Введение

Весьма вероятными и часто встречающимися причинами снижения репродуктивных функций крупного рогатого скота являются нарушения обмена веществ различной этиологии, среди которых особое место занимает свободнорадикальная патология, характеризующаяся избыточным накоплением в организме токсичных продуктов свободнорадикального (перекисного) окисления липидов (ПОЛ). Постоянный дефицит в рационе легкопереваримых углеводов и белка, дисбаланс биоантиоксидантов и других биологически активных веществ (БАВ) усугубляют ситуацию и оказывают стрессовое воздействие на организм животных, значительно истощая систему антиоксидантной защиты (АОЗ) [3, 5], недостаточность которой связывают с возникновением дисфункций репродуктивной системы крупного рогатого скота [1, 4].

Основной путь поступления в организм животных биоантиоксидантов и других БАВ – корма и кормовые биологически активные добавки в составе рационов. Если знать обеспеченность организма в необходимых БАВ, то появляется возможность своевременно корректировать возникающие дефициты

путем подбора компонентов и их количеств в составе биологически активной добавки (БАД).

Цель работы – изучить влияние БАД, включающих специально подобранные комплексы веществ с антиоксидантными свойствами, на репродуктивные функции глубокостельных коров и быков-производителей.

Материалы и методы исследований

Для достижения поставленной цели в условиях сельхозпредприятий Кировской области были проведены два опыта.

В первом эксперименте участвовали черно-пестрые голштинизированные коровы с 8-месячным сроком стельности. Из подобранных животных были сформированы две аналогичные группы (опытная и контрольная) по 15 коров в каждой, средним возрастом 1,6–1,7 лактации, с продуктивностью за предыдущую лактацию 7200 кг молока. Условия кормления и содержания животных в группах были одинаковыми. Общая питательность основного рациона составляла 122,8 МДж обменной энергии и 1065 г переваримого протеина, что соответствовало физиологической норме.

Дополнительно к основному рациону коровы контрольной группы получали унифицированный премикс в количестве 150 г/гол в сутки, содержащий в одной дозе: кальция – 6,3 г, фосфора – 7,5 г, магния – 9,0 г, серы – 18,0 г, меди – 285 мг, цинка – 787,5 мг, марганца – 300,0 мг, селена – 7,5 мг, йода – 30,0 мг, кобальта – 9,0 мг, витамина А – 105 тыс. МЕ, витамина Е – 1050 мг, витамина D₃ – 45 тыс. МЕ, наполнитель.

Коровы опытной группы взамен премикса получали разработанную БАД в дозе 50 г/гол в сутки, содержащую в одной дозе: магний – 2,5 г, серу – 8,0 г, медь – 120,0 мг, цинк – 300,0 мг, селен – 7,5 мг, витамин А – 380 тыс. МЕ, витамин Е – 400 мг, витамин Н – 0,01 г, витамин С – 2,5 г, янтарную кислоту – 1,6 г, наполнитель.

Скармливание премикса и БАД осуществляли один раз в сутки в смеси с концентратами, начиная за 30 дней до предполагаемого отела и заканчивая сразу после родов.

В ходе эксперимента у коров учитывали общее состояние организма, биохимические параметры крови, характер течения родов, наличие послеродовых осложнений, сохранность и жизнеспособность потомства, последующую продуктивность.

Для оценки интенсивности процессов ПОЛ и состояния АОЗ организма коров в начале эксперимента и через 20 дней скармливания БАД у пяти случайно выбранных животных из каждой группы в сыворотке крови определяли содержание малонового диальдегида (МДА) – в тесте с тиобарбитуровой кислотой; тиоловых групп белков (SH-групп) – фотокolorиметрическим ультрамикрометодом Фоломеева и церулоплазмина – методом Равина.

Второй опыт проводили на 15 быках-производителях черно-пестрой и голштинской пород, используя метод периодов. В предварительный период опыта (60 дней) быки получали основной рацион; в опытный период (150 дней) дополнительно к основному рациону быкам ежедневно скармливали разработанную БАД в дозе 15 г/гол с небольшим количеством концентрированных кормов; в заключительный период (60 дней) быки получали основной рацион, по составу и питательности соответствующий рационам предварительного и опытного периодов. Условия кормления, содержания и эксплуатации животных во время проведения эксперимента были одинаковыми. Ежедневно в составе основного рациона подопытные животные получали 137 МДж обменной энергии, 12,9 кг сухого вещества, 1,19 кг перевариваемого протеина и 2,84 кг сырой клетчатки, что соответствовало нормам кормления быков-производителей со средней нагрузкой. Одна доза БАД содержала, г/кг: витамин А – 16,7; витамин Е – 33,3; витамин Н (биотин) – 6,7; янтарную кислоту – 66,7; наполнитель – 876,6.

В ходе исследований у быков, участвующих в эксперименте, ежемесячно учитывали объем эякулята, количество нативной и разбавленной спермы, число получаемых сперматозоидов, концентрацию и активность сперматозоидов с использованием методик, изложенных в работе [2].

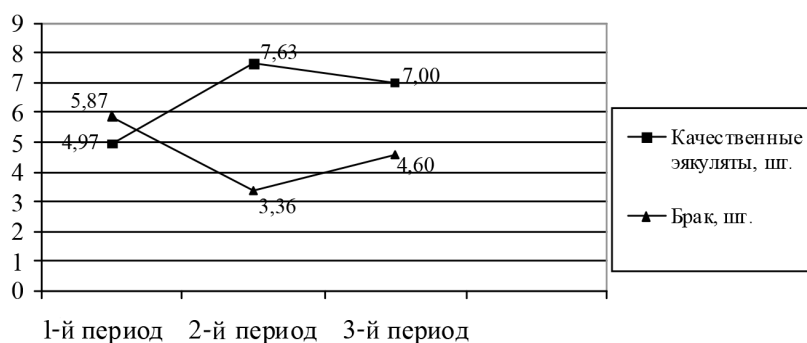
Оценку значимости полученных результатов экспериментальных исследований проводили с использованием критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Скармливание добавки глубокостельным коровам в течение 30 дней до отела в последующем благоприятно отразилось на их репродуктивных функциях. Так, в опытной группе животных, получавших БАД, роды протекали без осложнений, в то время как у 26,6 % контрольных животных были зарегистрированы случаи задержания последа. Данная патология в послеродовый период была осложнена возникновением острых воспалительных процессов в слизистой оболочке матки, что потребовало дополнительных затрат для лечения. Кроме того, развитие эндометритов явилось причиной замедления инволюционных процессов в половых органах коров, что выразилось в удлинении периода от отела до первого осеменения на 20 дней ($P < 0,05$), который составил $60,6 \pm 3,7$ дней в опытной группе животных и $80,6 \pm 2,8$ дней в контроле.

В течение трех последующих месяцев признаки половой охоты у коров и их последующее осеменение зафиксировано у 60,0 % животных опытной группы и 46,7 % в контроле.

За счет более физиологичного течения родового и послеродового периодов от животных опытной группы в первый месяц лактации был получен средне-



Динамика количества эякулятов, полученных от быков-производителей за опыт, шт/гол в месяц

суточный удой, равный $33,1 \pm 0,2$ кг молока, на $4,7\%$ ($P < 0,05$) превышающий продуктивность коров в контроле ($31,6 \pm 0,3$).

По результатам биохимических исследований сыворотки крови подопытных коров установлено положительное влияние скармливания БАД на концентрацию эндогенных антиоксидантов: концентрация ЦП в начале опыта у животных обеих групп была приблизительно одинаковой: $6,52 \pm 0,27$ мг% в контроле и $6,54 \pm 0,41$ мг% в опытной группе. К концу опыта в обеих группах отмечено снижение содержания ЦП до $4,44 \pm 0,39$ мг% в контрольной и до $6,40 \pm 0,29$ мг% в опытной группе животных ($P < 0,05$). Очевидно, что изучаемая БАД в составе рациона способствовала поддержанию активности ЦП в организме коров опытной группы. Данные изменения сдерживали активизацию ПОЛ и чрезмерное накопление МДА: $3,2 \pm 0,07$ и $3,38 \pm 0,05$ мкмоль/л до скармливания и $3,06 \pm 0,11$ и $2,94 \pm 0,07$ мкмоль/л ($P < 0,01$) через 20 дней опыта в контрольной и опытной группах соответственно.

Полагаем, что изучаемая БАД, обладая антиоксидантными свойствами, способствовала снижению нагрузки на систему АОЗ организма, мобилизации внутренних защитных механизмов, что выразилось в ускорении инволюционных процессов в репродуктивных органах коров.

Скармливание быкам-производителям разработанной БАД способствовало увеличению в эякуляте активности сперматозоидов с $4,65 \pm 0,26$ баллов в предварительный период до $6,0 \pm 0,17$ баллов в опытный период, или на 29% ($P < 0,05$). В заключительный период активность сперматозоидов снизилась на $7,6\%$ в сравнении с опытным периодом, но была выше на $19,4\%$, чем в предварительный период.

Количество выбракованных эякулятов в опытный период (см. рисунок) резко и достоверно снизилось на $42,7\%$ ($P < 0,05$) в сравнении с предварительным периодом. В заключительный период количество брака снова возросло на $36,9\%$ ($P < 0,05$) в сравнении с основным периодом опыта, что свидетельствовало об эффективности изучаемой БАД в отношении поддержания высокого качества спермопродукции быков-производителей. При этом ее непосред-

ственное влияние доказывало последующее снижение активности сперматозоидов и количества качественных эякулятов, а также увеличение брака после прекращения добавления добавки в состав рациона. За счет сокращения объема выбракованной спермы удалось повысить эффективность эксплуатации быков-производителей и получить от одного животного на 56,7 % ($P < 0,05$) больше замороженных спермодоз в сравнении с предварительным периодом опыта.

Заключение

На основании проведенных исследований установлено, что введение в состав рациона кормления сухостойных коров и быков-производителей БАД, включающих специально подобранные комплексы веществ с антиоксидантными свойствами, позволило стабилизировать перекисные процессы в организме коров, что способствовало достижению 100 %-ной профилактической эффективности в отношении родовых и послеродовых осложнений, в сравнении с 73,0 %-ной профилактической эффективностью в контроле; у быков скармливание добавки привело к сокращению объема выбракованной спермы, в результате удалось повысить эффективность эксплуатации быков-производителей и получить от одного животного на 56,7 % больше замороженных спермодоз в сравнении с предварительным периодом опыта.

Литература

1. Венцова, И. Ю. Особенности перекисидации липидов у сухостойных и лактирующих высокопродуктивных молочных коров / И. Ю. Венцова // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 4. – С. 67–71.
2. Национальная технология замораживания и использования спермы племенных быков-производителей / В. Н. Виноградов [и др.] ; под общ. ред. Н. М. Решетниковой. – М., 2008. – 160 с.
3. Ричардс, Д. Д. Органические микроэлементы – неотъемлемый компонент современного кормления / Д. Д. Ричардс, Э. И. Гизен, Р. Б. Ширли // Животноводство России. – 2011. – № 3. – С. 52–54.
4. Состояние перекисидного окисления и системы антиоксидантной защиты у коров при патологическом течении послеродового периода и бесплодии / Г. Н. Блинецова [и др.] // Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней животных и птиц : сб. науч. тр. – Екатеринбург : Уральское изд-во, 2008. – С. 38–48.
5. Шабунин, С. Ф. Проблемы профилактики бесплодия у высокопродуктивного молочного скота / С. Ф. Шабунин, А. Г. Нежданов, Ю. Н. Алехин // Ветеринария. – 2011. – № 2. – С. 3–8.

Поступила 29.06.2017 г.

**А. П. Порываева, Е. В. Печура,
А. С. Красноперов, О. Ю. Опарина**

**ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ПРЕПАРАТА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
ПРИ ОСТРОЙ РЕСПИРАТОРНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

*ФГБНУ «Уральский научно-исследовательский ветеринарный
институт», г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия*

Введение

Постоянной эпизоотической угрозой для продуктивного животноводства практически во всех странах мира являются острые респираторные заболевания инфекционной этиологии (ОРВИ) [2]. Особенно эта проблема актуальна в отношении молодняка крупного рогатого скота (КРС). У телят раннего возраста инфекционные агенты часто выступают в качестве триггерного фактора в формировании иммуносупрессивных состояний и развитии патологии обменных процессов [1]. При инфекционных заболеваниях органов дыхания гибель телят в совокупности с вынужденным убоем в отдельных сельскохозяйственных предприятиях достигает 50,0–55,0 %. В 60,0 % случаев переболевшие телята выбраковываются. Ситуация осложняется тем, что многолетняя селекция по принципу продуктивности и эколого-технологические стрессы способствуют более высокой восприимчивости животных к респираторным инфекциям [2].

В Уральском регионе наиболее часто в роли этиологических агентов респираторных заболеваний КРС выступают такие вирусы, как вирус инфекционного ринотрахеита (ИРТ) и вирус диареи (ВД) [1]. Патогенетические особенности возбудителей ИРТ и ВД обуславливают полиморфизм клинических проявлений заболевания, а персистентно инфицированные животные являются основным источником и естественным резервуаром инфекционно активных вирусов. Высокая численность поголовья животных в племенных и товарных хозяйствах создает условия для обострения и напряжения эпизоотической ситуации по респираторным заболеваниям. Разработка и внедрение в животноводческих предприятиях Свердловской области комплексных программ оздоровительных мероприятий против возбудителей ОРВИ существенно снижает уровень заболеваемости среди молодняка КРС – основной группы риска по развитию инфекционных заболеваний органов дыхания [1]. В комплексных программах большое внимание наряду с мониторингом за распространением возбудителей респираторных заболеваний и мероприятиями специфической профилактики уделяется поиску и исследованию препаратов,

повышающих функциональные возможности иммунной системы. В настоящее время группа противовирусных препаратов микробиологического происхождения считается одной из перспективных для профилактики и лечения инфекционных заболеваний органов дыхания у молодняка КРС [2].

Цель работы – оценить эффективность применения препарата Эндовираза® для профилактики и лечения инфекционных заболеваний органов дыхания у молодняка КРС.

Материалы и методы исследований

Исследование выполнено в рамках направления 160 Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы по теме «Разработка теоретических основ для создания и внедрения программы мониторинга, диагностики, лечебно-профилактических и оздоровительных мероприятий по защите животных от эпизоотически значимых инфекционных болезней» (№ 0773-2014-0017) в лаборатории вирусных болезней ФГБНУ Уральского НИВИ.

Объект исследования: молодняк КРС уральского типа черно-пестрой породы – телочки в возрасте 3–4 месяцев с живой массой 95–110 кг ($n = 24$), которых содержали в сельскохозяйственном предприятии Белоярского района Свердловской области. Помещения для содержания животных – типовые корпуса с естественно-искусственным освещением и приточно-вытяжной вентиляцией. Телочек содержали в групповых клетках на 6 голов. При кормлении использовали силосно-концентратный рацион. Группы животных формировали по принципу аналогов в зависимости от физиологического состояния.

Научно-производственный опыт проводили в зимний период (декабрь–январь). В помещениях для содержания животных регистрировали повышенную влажность и загазованность. Клинический осмотр молодняка для выявления симптоматики ОРВИ КРС проводили согласно методическим рекомендациям О. Г. Петровой с соавт. [2]. При оценке клинического статуса животных учитывали следующие показатели: внешний вид и упитанность; состояние слизистых оболочек и кожного покрова, лимфатических узлов, состояние органов дыхательной, сердечно-сосудистой и пищеварительной систем, опорно-двигательного аппарата.

Препарат Эндовираза® (производства ООО «Северный стиль», г. Москва) относится к группе противовирусных препаратов микробиологического происхождения. В его состав входит фермент эндонуклеаза бактериальная (дезоксирибонуклеат (рибонуклеат) 5'-нуклеотидгидролаза) с активностью 10 000 ед. в 10 мг препарата, полиглюкин (полисахарид-декстран) – вспомогательное вещество 9 мг и активатор фермента – магний сернокислый 0,12 г. В целях профилактики и защиты верхних дыхательных путей от возбудителей ОРВИ препарат Эндовираза® вводили телятам интраназально аэрозольно по 2,5 мл в каждый носовой ход пятикратно: в 1-й, 3-й, 5-й, 7-й и 9-й день схемы научно-производственного опыта. Эффективность применения препарата оце-

нивали по результатам клинического осмотра, лабораторных исследований крови и сыворотки крови до начала опыта, на 7-й и 14-й день научно-производственного опыта.

Эффективность применения препарата Эндовираза® оценивали:

1) по показателю защищенности (ПЗ, %) популяции животных от респираторных вирусных инфекций

$$\text{ПЗ} = \frac{100(\text{ИЭ} - 1)}{\text{ИЭ}},$$

где $\text{ИЭ} = \frac{P_1}{P_2}$ (ИЭ – индекс эффективности; P_1 – показатель клинических проявлений респираторных вирусных инфекций в контрольной группе, %; P_2 – показатель клинических проявлений респираторных вирусных инфекций в опытной группе, %;

2) по показателю относительного риска (ОР) инфицирования

$$\text{ОР} = \frac{\text{Частота исхода в группе вмешательства}}{\text{Частота исхода в группе контроля}}.$$

Значения ОР от 0 до 1 соответствуют снижению риска, более 1 – его увеличению. ОР равный 1 означает отсутствие эффекта;

3) по снижению относительного риска (COP)

$$\text{COP} = \frac{B - A}{B} \cdot 100 \%,$$

где А – частота исходов в группе вмешательства; В – частота исходов в группе контроля.

Значение COP более 50,0 % соответствует клинически значимому эффекту, от 25,0 до 50,0 % – клиническому эффекту, менее 25 % – свидетельствует об отсутствии клинически значимого эффекта [3].

Лабораторное подтверждение ОРВИ проводили методом серологического исследования парных проб сыворотки крови по приросту титра специфических антител к вирусам ИРТ КРС, ВД (РНГА), ПГ-3 (РТГА).

Достоверность результатов подтверждали путем статистической обработки и определения различий средних значений с помощью *t*-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными при $P < 0,05$. Для обработки полученных данных использовали программу Microsoft Excel, входящую в пакет программ Microsoft Office Pro.

Результаты и их обсуждение

При клиническом осмотре молодняка КРС симптомы заболевания респираторного тракта были выявлены у 29,2 % телочек в возрасте 3–4 месяцев. В программу научно-производственного опыта по оценке эффективности применения препарата Эндовираза® были включены животные ($n = 12$) только

с симптомами респираторных заболеваний: серозные выделения из носовых ходов, гиперемия слизистых оболочек носовой полости, кашель, жесткое везикулярное дыхание, хрипы в легких. В ходе лабораторного исследования был установлен диагноз – ОРВИ КРС. Группы животных для реализации программы научно-производственного опыта формировали по принципу аналогов (см. таблицу).

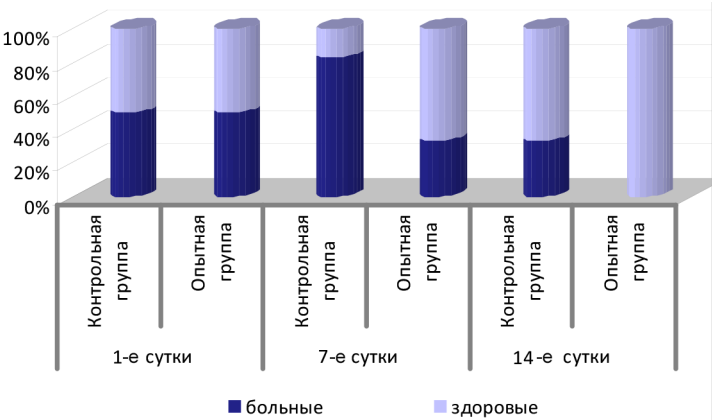
Характеристика групп молодняка КРС, включенных в программу научно-производственного опыта по оценке лечебной эффективности препарата Эндовираза® (n = 24)

Определяемый показатель	Молодняк КРС – телочки в возрасте 3–4 месяцев (n = 24)	
	контрольная группа (n = 12)	опытная группа (n = 12)
Клинически здоровые животные (абс.)	6	6
Животные с клиническими симптомами ОРВИ (абс.)	6	6
Процентное соотношение доровые/«Больные» (%)	50/50	50/50

Телочки в опытной группе вне зависимости от клинического состояния пятикратно интраназально получали препарат Эндовираза®.

Клиническое наблюдение за состоянием здоровья у телочек выявило различную динамику течения ОРВИ в контрольной и опытной группах (см. рисунок).

В контрольной группе на 7-е сутки проведения научно-производственного опыта количество больных животных увеличилось до 83,3 %. У 10 телочек из контрольной группы наблюдалось выраженное клиническое проявление респираторного синдрома: серозные истечения из носовых ходов, жесткое везикулярное дыхание, хрипы, кашель, взъерошенность шерстного покрова. В опытной группе в этот период количество больных животных составляло 33,3 %. Из клинических симптомов ОРВИ у больных телочек из опытной группы



Динамика течения заболеваний с респираторным синдромом у телочек контрольной и опытной групп

регистрировали серозные истечения из носовых ходов и жесткое везикулярное дыхание.

На 14-й день проведения научно-производственного опыта в контрольной группе у 4 телочек (33,3 %) заболевание прогрессировало и имело тяжелый характер. В связи с тяжелым состоянием животных в схему лечения было включено применение антибиотиков. В опытной группе у животных, которым интраназально вводили препарат Эндовираза®, клинических проявлений респираторного заболевания не наблюдалось. Об отсутствии заболевания у телочек в опытной группе свидетельствовал и тот факт, что среднесуточный прирост живой массы у них был на 3,0–5,0 % выше, чем у животных в контрольной группе.

При оценке терапевтического эффекта интраназального применения препарата Эндовираза® на 7-е и 14-е сутки проведения научно-производственного опыта были получены следующие результаты.

Показатели эффективности применения препарата Эндовираза® у телочек «опытной» группы на 7-е сутки проведения научно-производственного опыта свидетельствовали о снижении риска инфицирования – $OP = 0,39 \leq 1$ здоровых животных, находящихся в одном помещении с больными; о клинически значимом лечебном эффекте – $COP = 60,2\%$ у больных особей. Показатель ИЭ применения препарата Эндовираза® на 7-е сутки составлял 2,5; показатель защищенности (ПЗ) животных в опытной группе от ОРВИ – 60,0 %.

На 14-е сутки проведения научно-производственного опыта определить ИЭ применения и ПЗ не удалось по причине отсутствия телочек с выраженными клиническими признаками респираторного заболевания в опытной группе. Относительный риск инфицирования животных в этой группе был минимален ($OP = 0$). Клинически значимый лечебный эффект в виде снижения COP после применения препарата Эндовираза® у телочек опытной группы отмечался в 100 % случаев.

Заключение

Анализ полученных результатов научно-производственного опыта показал, что, во-первых, действие препарата Эндовираза® сравнимо с высокоактивными противовирусными средствами, на что указывают высокие значения COP , а во-вторых, у здорового молодняка КРС применение препарата Эндовираза® снижает риск развития респираторных заболеваний при контакте с больными телами, что позволяет использовать его в качестве профилактического средства.

Литература

1. Вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота в Уральском регионе / Е. Н. Шилова [и др.] // Ветеринария. – 2014. – № 5. – С. 19–21.
2. Комплексная программа по оздоровлению хозяйств от смешанных вирусно-бактериальных инфекций крупного рогатого скота / О. Г. Петрова [и др.]. – Екатеринбург, 2006. – 21 с.
3. Эпидемиологические и биостатистические термины, используемые для представления результатов исследований // Междунар. журн. мед. практики. – 1997. – № 1, 2.

Поступила 31.05.2017 г.

И. И. Кузьминский, А. В. Лиленко, Е. А. Степанова

**ЛЕЧЕБНАЯ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ПРЕПАРАТА «БЕЛЭНДОМАСТ» ПРИ СКРЫТОМ
ЭНДОМЕТРИТЕ И МАСТИТЕ КОРОВ**

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелецкого»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Для Республики Беларусь высокоразвитое животноводство является основой обеспечения продовольственной безопасности страны, важнейшим условием сохранения суверенитета и независимости государства. В настоящее время в нашей стране отрасль животноводства производит около 60,0 % валовой продукции сельского хозяйства. Продуктивность животных во многом зависит от генетического потенциала. Однако реализовать его возможно только при условии поддержания здоровья животных. Высокопродуктивными могут быть только здоровые животные.

В связи с дальнейшим ростом молочной продуктивности дойного стада возникает проблема сохранения воспроизводительной способности животных и нормального функционирования молочной железы [1, 4, 5].

Искусственное осеменение – одно из главных звеньев в воспроизводстве крупного рогатого скота. Однако на пути решения этой задачи большим препятствием является бесплодие. Оно приводит к огромному экономическому ущербу (недополучаем сотни тысяч телят и столько же тонн молока). Основными причинами такой ситуации являются многократные безрезультативные осеменения, вызванные воспалительными процессами в матке. Это хронические, скрытые эндометриты. По данным Р. Г. Кузьмич (2000), А. В. Глаз (2004), О. П. Ивашкевич (2008) эти нарушения регистрируются у 25,0–62,0 % дойных коров. Такие животные регулярно приходят в охоту, их осеменяют по 5–8 раз и более, но беременность не наступает, а затем выбраковывают из стада как малопродуктивных [2].

Воспалительные процессы в вымени коров также имеют широкое распространение во всех странах с развитым молочным скотоводством. Ущерб, наносимый маститами коров, весьма внушительный. За период болезни и после выздоровления молочная продуктивность коров снижается на 10,0 % и более, даже при успешном лечении прежние удои коров в ряде случаев полностью не восстанавливаются. До 10,0 % коров может быть выбраковано по причине атрофии вымени после переболевания, особенно среди высокопродуктивных животных [3].

Решение проблемы сохранения и восстановления репродуктивной функции животных и их молочной продуктивности на основе новых лечебных

и профилактических технологий с учетом этиологии и патогенеза воспалительных заболеваний половых органов и молочной железы возможно только при комплексном подходе. Наличие препаратов, используемых одновременно для лечения коров, больных маститом и эндометритом, расширяет арсенал отечественных ветеринарных средств и придает универсальность при терапии субклинических форм воспалительного процесса в матке и молочной железе.

В отделе патологии размножения и ветеринарной санитарии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского» разработан новый комплексный ветеринарный препарат «Белэндомаст» (ТУ ВУ 600049853.226-2014), предназначенный для лечения и профилактики субклинического мастита и эндометрита у коров. Препарат содержит тилозин тартрат, пропранолол гидрохлорид, новокаин и основу. Антимикробные свойства препарата проявились в отношении *Staphylococcus aureus* – зона задержки роста составила 22 мм, *Streptococcus faecalis* – 35, *Escherichia coli* – 42, *Proteus vulgaris* – 44 мм, что указывает на его высокую антимикробную активность.

Цель работы – определить эффективность нового комплексного ветеринарного препарата «Белэндомаст» при лечении коров, больных скрытым эндометритом и маститом.

Материалы и методы исследований

Терапевтическую эффективность разработанного препарата «Белэндомаст» определяли на коровах, больных скрытым хроническим эндометритом на МТФ «Жажелка» ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области.

Выявленным во время охоты коровам с хроническим скрытым эндометритом (48 голов) вводили препарат «Белэндомаст» внутриматочно однократно в дозе 15–20 см³ через 12–24 ч после последнего осеменения. Животные контрольной группы (28 голов) лечебным обработкам не подвергались.

Оценку результатов испытаний препарата определяли по количеству обработанных коров, ставших стельными после осеменения в эту же охоту.

Для определения профилактической эффективности препарата при мастите в сухостойный период при интроцистернальном введении на МТФ «Тарасово» УП «Агрокомбинат Ждановичи» Минского района сформировали опытную и контрольную группы. Животным опытной группы (25 голов) вводили «Белэндомаст» однократно в дозе 5,0 см³ сразу после запуска в каждую четверть вымени, контрольной (17 голов) – Мастисан Е согласно инструкции по применению.

Контроль эффективности препаратов проводили после отела при клиническом обследовании коров, молочной железы и молока с помощью диагностикума «Беломастин».

Профилактическую эффективность «Белэндомаста» при мастите (паравагинальное введение) изучали в сухостойный период у коров на МТФ «Слобода»

ЧУСП «Озерицкий-Агро» Смолевичского района. За 2–3 недели до предполагаемого отела животным опытной группы (42 голов) вводили «Белэндомаст» паравагинально трехкратно с интервалом 24 ч в дозе 20,0 см³, а в контрольной группе (19 голов) препараты не применяли.

Контроль эффективности препаратов проводили после отела при клиническом обследовании коров, молочной железы и молока с помощью диагностикума «Беломастин» на наличие мастита.

Испытания эффективности препарата «Белэндомаст» при лечении субклинического мастита у коров в лактационный период проводили в ГУ «Племптицезавод Белорусский» на МТФ «Дуличи» Минского района. После проведения диагностики, по мере выявления коров, больных субклиническим маститом, сформировали по принципу аналогов две опытные и контрольную группы. Животным первой опытной группы (15 голов) вводили «Белэндомаст» паравагинально трехкратно с интервалом 24 ч в дозе 20,0 см³, коровам второй группы (16 голов) применяли препарат интерцистернально трехкратно с интервалом 24 ч в дозе 10,0 см³. Животным контрольной группы (11 голов) вводили «Пеникан П» согласно инструкции по применению.

Контроль лечебной эффективности препаратов проводили с помощью беломастиновой пробы и клинического исследования молочной железы коров спустя 8–10 дней после последнего введения.

Результаты и их обсуждение

Проведенными испытаниями на МТФ «Жажелка» ГП «ЖодиноАгро-ПлемЭлита» установлено, что в опытной группе выздоровление наступило у 38 голов, т. е. стали стельными после осеменения и лечебной обработки 79,2 % коров (табл. 1).

Таблица 1. Терапевтическая эффективность препарата «Белэндомаст» у коров, больных скрытым хроническим эндометритом

Группа животных	Количество животных, голов	В том числе			
		стали стельными		не оплодотворились	
		голов	%	голов	%
Опытная	48	38	79,2	10	20,8
Контрольная	28	13	46,4	15	53,6

В контрольной группе, где санация полости матки не проводилась, плодотворное осеменение наступило у 13 (46,4 %) животных.

Таким образом, препарат «Белэндомаст» эффективен при лечении скрытого хронического эндометрита у коров и его применение может осуществляться оператором по искусственному осеменению.

Проведенными испытаниями по определению эффективности при мастите на МТФ «Тарасово» УП «Агрокомбинат Ждановичи» установлено, что при

интерцистернальном однократном введении препарата «Белэндомаст» сразу после запуска профилактическая эффективность составила 88,0 %, по четвертям вымени – 96,0 %, а в контрольной группе после применения Мастисана Е – 76,4 % и 86,7 % соответственно (табл. 2).

Таблица 2. Эффективность профилактики мастита при интерцистернальном введении препарата «Белэндомаст» в сухостойном периоде у коров

Группа животных	Подвергнуто обработке		Заболело		Профилактическая эффективность			
	голов	четвертей	голов	четвертей	голов	%	четвертей	%
Опытная	25	100	3	4	22	88,0	96	96,0
Контрольная	17	68	4	9	13	76,4	81	86,7

Профилактическая эффективность препарата на МТФ «Слобода» ЧСУП «Озеричкий-Агро» в сухостойный период при паравагинальном введении подтвердилась у 88,0 % животных, в контрольной группе – 63,1 % (табл. 3).

Таблица 3. Эффективность профилактики мастита при паравагинальном введении препарата «Белэндомаст» в сухостойном периоде у коров

Группа животных	Количество животных, голов	В том числе			
		не заболело маститом		заболело маститом	
		голов	%	голов	%
Опытная	42	37	88,0	5	7
Контрольная	19	12	63,1	12	36,9

Лечение коров, больных маститом на МТФ «Дуличи» ГУ «Племптицезавод Белорусский» при интерцистернальном введении препарата позволило достичь терапевтического эффекта у 80,0 % животных с выздоровлением 78,3 % четвертей вымени, а при паравагинальном введении – 81,2 и 78,2 % соответственно. В контрольной группе терапевтическая эффективность составила 72,7 % по животным и 73,3 % по четвертям вымени, что в среднем на 8,0 и 5,0 % ниже, чем в опытной группе (табл. 4).

Отрицательных последствий после применения препарата при лечении субклинического эндометрита и мастита установлено не было.

Таблица 4. Эффективность лечения коров, больных маститом в лактационном периоде, при интерцистернальном и паравагинальном введении препарата «Белэндомаст»

Группа животных	Препарат		Подвергнуто лечению		Выздоровело			
	Название	Способ введения	голов	четвертей	голов	%	четвертей	%
1-я опытная	Белэндомаст	Интерцистернальный	15	37	12	80,0	29	78,3
2-я опытная	Белэндомаст	Паравагинальный	16	23	13	81,2	18	78,2
Контроль	Пеникан П	Интерцистернальный	11	15	8	72,7	11	73,3

Заключение

Разработанный препарат «Белэндомаст» позволяет расширить арсенал ветеринарных средств для лечения субклинических эндометритов и маститов у коров. Терапевтическая эффективность препарата «Белэндомаст» при лечении скрытого эндометрита у коров составляет 79,1 %, что на 32,8 % выше по сравнению с контрольной группой (интактной). Лечение субклинического мастита у коров обеспечивает выздоровление у 80,0 % больных животных при интерцистернальном введении и у 81,2 % – при паравагинальной инъекции, что в среднем на 8,0 % выше по сравнению с препаратом «Пеникан П» (контроль). Профилактическая эффективность в сухостойном периоде при мастите при интерцистернальном введении составляет 88,0 %, в контроле – 76,4 %, а при паравагинальном введении – 88,0 и 63,1 % соответственно.

Литература

1. Богуш, В. А. Мастит коров и меры его профилактики / В. А. Богуш, В. Е. Иванов, Л. М. Бородич. – Минск : Белпринт, 2009. – 160 с.
2. Заянчковский, И. Ф. Экономический ущерб от бесплодия коров / И. Ф. Заянчковский // Зоотехния. – 1991. – № 2. – С. 54–55.
3. Тулев, Ю. Профилактика снижения молочной продуктивности больных коров / Ю. Тулев, Н. Тулева // Молочное и мясное скотоводство. – 2007. – № 8. – С. 26–28.
4. Foote, R. H. Gonadotropin-releasing hormone improves reproductive performance of dairy cows with slow involution of the reproductive tract / R. H. Foote, P. M. Riek // J. Anim. Sci. – 1999. – № 77. – P. 12–18.
5. Kaneene, J. B. Epidemiological study of metritis in michigan dairy cattle / J. B. Kaneene, R. Miller // Veter. Rec. – 1994. – Vol. 25. – № 2–3. – P. 253–257.

Поступила 29.06.2017 г.

УДК 619:618.4.-002:636.2

Н. В. Вельбивец, И. Н. Плахотнюк, О. А. Бабань

ОЦЕНКА И СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ КОРОВ, БОЛЬНЫХ ПОСЛЕРОДОВЫМ ЭНДОМЕТРИТОМ

*Белоцерковский национальный аграрный университет,
г. Белая Церковь, Киевская обл., Украина*

Введение

Послеродовой эндометрит – частая патология послеродового периода у коров, которая способствует симптоматическому бесплодию, снижению молочной продуктивности, преждевременной выбраковке животных и значительно-му экономическому ущербу [1, 2]. Отечественной наукой и практикой разработано и рекомендовано производству много методов лечения коров, больных

послеродовым эндометритом, большинство из которых основывается на местном противомикробном действии. Однако воспалительные процессы половых органов коров часто возникают вследствие нарушения обмена веществ, нервных и эндокринных расстройств, что обязательно необходимо учитывать при разработке методов лечения [3].

Возбудителями воспалительных процессов в матке могут быть ассоциации микроорганизмов: стрептококки, стафилококки, диплококки, синегнойная и кишечная палочки, вульгарный протей, псевдомонады, анаэробы, грибки из рода аспергиллиус и кандиды [4].

Следовательно, проблема эндометрита не новая и многие вопросы относительно этиологии и патогенеза болезни еще недостаточно изучены, что усложняет раннюю диагностику, лечение и профилактику воспалительных процессов в матке.

Цель работы – изучить распространение, этиологию и патогенез острого послеродового эндометрита у коров и оценить комплексные методы лечения животных при этой патологии.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили на коровах чёрно-пёстрой породы в возрасте от 3 до 10 лет с молочной продуктивностью 3200–6500 кг. Были проведены клинические исследования и анализ 73 проб крови клинически здоровых и больных эндометритом коров.

В крови определяли: содержание общего белка – рефрактометрически (метод Райса), общее количество иммуноглобулинов – фотоэлектрокалориметром реакцией с 18,0 %-ным раствором натрия сульфита, общий кальций – трилонометрическим методом с мурексидом, неорганический фосфор – по методу Дусе, каротин – спектрометрическим методом О. Бессея в модификации А. А. Анисовой, гормоны – радиоиммунологическим методом. Количество лейкоцитов определяли в камере с сеткой Горяева, а лейкограмму – по мазкам, окрашенным по Романовскому–Гимзе.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что острым послеродовым эндометритом болеет от 10,2 до 72,1 % животных. В распространении воспаления матки наблюдалась сезонность. Зимой после отёла болело 21,4 % коров, весной – 37,8 %, а летом и осенью заболеваемость животных значительно снижалась и составляла 6,1 и 5,4 % соответственно.

Обнаружена прямая связь частоты эндометрита с течением родов. После патологических родов, на стадии выведения плода, воспаление слизистой оболочки матки диагностировали у 72,3 % животных, а после задержания последа – у 80,6 %. Если же роды проходили нормально, то эндометрит развивался

у 7,2 % коров. В 58,1 % случаев эндометрит возникал как осложнение субинволюции матки.

Воспаление матки до четвёртого дня после родов диагностировали у 6,3 % коров, на 5–15-е сутки послеродового периода – у 88,5, а после 15 дня – у 5,2 % животных.

При ректальном исследовании коров, больных острым послеродовым эндометритом, обнаружили снижение ригидности матки в виде гипотонии и атонии. Установлено, что эндометрит развивается при разном состоянии яичников: желтые тела регистрировали у 61,0 % коров, фолликулы – у 10,6, гипофункцию яичников – у 28,4 % животных с воспалением матки.

В крови коров, больных острым послеродовым эндометритом, установлено снижение количества общего кальция (на 8,6 %), неорганического фосфора (на 17,3 %) и тенденция к снижению общего белка. Кроме того, достоверно снизилось количество иммуноглобулинов в сыворотке крови, что является показателем нарушения гуморальных факторов неспецифической резистентности коров. У 32,5 % больных эндометритом животных наблюдалась гипокаротинемия, что может приводить к снижению синтеза витамина А и нарушению функционирования эпителия слизистой оболочки половых органов и эндокринных желез. Количество лейкоцитов в крови больных коров незначительно увеличилось, в лейкограмме наблюдался простой (регенеративный) сдвиг ядра, увеличилось абсолютное количество лейкоцитов.

Результаты иммунологического исследования плазмы крови здоровых животных и коров, больных острым послеродовым эндометритом, указывают на значительные нарушения стероидогенеза (табл. 1).

Таблица 1. Эндокринные показатели плазмы крови коров, нмоль/л

Гормон	Клинически здоровые (n = 25)	Больные эндометритом (n = 18)	p ≤
Тестостерон, пг/л	424,97 ± 82,18	833,20 ± 99,75	0,01
Эстрадиол	2,380 ± 0,181	1,180 ± 0,255	0,001
Прогестерон	4,30 ± 0,25	5,88 ± 0,32	0,001
Кортизол	7,5 ± 1,2	14,2 ± 3,4	0,1
Тироксин	25,9 ± 1,6	32,3 ± 3,1	0,1
Инсулин	39,7 ± 10,4	17,9 ± 2,6	0,05

При остром эндометрите установлено повышение в плазме крови количества тестостерона на 96,1 %, прогестерона – на 36,7 %, наблюдалась тенденция к повышению концентрации тироксина и кортизола, в то же время количество инсулина и эстрадиола достоверно уменьшалось ($p < 0,05$ и $0,001$ соответственно).

При нормальном течении послеродового периода прогестероно-эстрадиоловое соотношение составляло 1,8:1,0, при наличии эндометрита – 5,0:1,0 (в 2,8 раза выше).

Установлено также, что количество овариальных стероидных гормонов и их соотношения в плазме крови коров, больных эндометритом, зависит от состояния яичников (табл. 2).

Таблица 2. Количество гормонов в плазме крови коров, больных эндометритом при разном состоянии яичников (n = 12)

Состояние яичников	Концентрация, нмоль/л		П:Е*
	прогестерона	эстрадиола	
С желтым телом	5,99 ± 0,56	0,580 ± 0,148	10,3:1,0
С фолликулами	5,31 ± 0,51	1,850 ± 0,402	2,9:1,0
Гипофункция	4,04 ± 1,08	1,790 ± 0,384	2,2:1,0

*Прогестероно-эстрадиоловое соотношение.

Соотношение прогестерона к эстрадиолу в плазме крови коров, больных острым послеродовым эндометритом, при наличии желтого тела в яичниках, было наиболее высоким (10,3:1,0) – в 4,7 раз больше, чем при гипофункции яичников и в 3,5 раза больше в сравнении с животными, в яичниках которых были фолликулы ($p < 0,001$).

В научно-производственном опыте использовали 95 коров чёрно-пёстрой породы, у которых диагностировали острый послеродовой эндометрит. За принципом аналогов, с учётом массы тела, возраста, характера воспалительного процесса и физиологического состояния, их разделили на семь групп (шесть опытных и одну контрольную).

С лечебной целью животным всех групп внутривенно вводили 10,0 %-ный раствор новокаина в дозе 10 мл, после чего внутриматочно коровам первой группы ($n = 31$) использовали 50 мл иззатизона, второй группы ($n = 33$) – 150 мл 5,0 %-го раствора АСД-Ф 2, третьей ($n = 15$), четвёртой ($n = 15$), пятой ($n = 15$), шестой ($n = 15$) и контрольной ($n = 17$) групп – 150 мл 10,0 %-го раствора ихтиола. Дополнительно внутримышечно животным третьей группы вводили 2 мл эстрофана, четвёртой группы – 10 мл сурфагона, пятой группы – 50 ЕД ФСГ и шестой группы – 4000 ЕД фолликулина.

Внутривенное и внутриматочное введение препаратов выполняли с интервалом 48 ч до выздоровления животных, а гормоны вводили однократно в начале лечения.

В контрольной группе выздоровело 82,3 % животных. Средняя продолжительность лечения составила $10,7 \pm 0,7$ сут., а кратность терапевтических процедур – 5,2. Оплодотворилось за 90 сут. опыта 82,3 % коров. Продолжительность бесплодия на одно животное в среднем составила $48,3 \pm 11,1$ сут.

Эффективность лечения коров первой опытной группы была наивысшей. Выздоровело и оплодотворилось 93,5 % животных. Среднее количество терапевтических процедур составило 3,5, а длительность лечения – $6,7 \pm 0,3$ сут. Продолжительность бесплодия на одну корову составила $26,5 \pm 5,2$ сут. В крови

животных, которые выздоровели, наблюдалось повышение количества общего белка, общего кальция, неорганического фосфора, иммуноглобулинов. Нормализовались показатели эритроцито- и лейкопоза.

Во второй группе выздоровело и оплодотворилось 84,9 % животных после 4,7 терапевтических процедур, продолжительность лечения составила $9,3 \pm 0,3$ сут. Продолжительность бесплодия на одну корову – $45,5 \pm 5,5$ сут.

Высокий терапевтический эффект был получен в третьей опытной группе. Выздоровело и оплодотворилось 93,3 % животных. Средняя продолжительность лечения составила $7,6 \pm 0,3$ сут., а кратность терапевтических процедур – 3,3. Продолжительность бесплодия на одну корову – $41,1 \pm 10,6$ сут. Повышение эффективности лечения коров этой группы связано с лютеолитическим действием эстрофана, что ведёт к рассасыванию жёлтого тела, снижению прогестероно-эстрадиолового соотношения, усилению сокращения миометрия и быстрого выведения экссудата.

В четвертой группе выздоровело 86,6 % животных. Продолжительность лечения составила $9,3 \pm 0,4$ сут. при среднем количестве терапевтических процедур 4,0. Было оплодотворено 80,0 % коров, а продолжительность бесплодия на одну корову составила $41,5 \pm 8,6$ сут.

В пятой опытной группе выздоровело 93,3 % животных. Среднее количество терапевтических процедур составило 4,5, а продолжительность лечения – $9,0 \pm 0,4$ сут. Было оплодотворено 80,0 % коров.

Лечение коров шестой группы было низкоэффективным. Выздоровело и оплодотворилось 53,0 % животных. Продолжительность бесплодия на одну корову составила $45,6 \pm 8,4$ сут.

Заключение

Эффективность методов лечения подтвердила целесообразность комплексного влияния на организм коров, больных острым послеродовым эндометритом, который обеспечивает антимикробное действие, повышает резистентность, снижает уровень прогестероно-эстрадиолового соотношения.

Применение изатизона в сочетании с новокаином сопровождалось высоким терапевтическим эффектом, а изменения в половых органах и организме коров обеспечивали полноценную половую цикличность и оплодотворяемость 93,5 % животных.

При наличии жёлтого тела в яичниках коров, больных эндометритом, метод лечения необходимо дополнять введением простагландина $F_{2\alpha}$, что способствует ускорению выздоровления и проявлению стадии возбуждения полового цикла, возобновлению воспроизводительной способности и сокращению бесплодия.

В дальнейшем планируется продолжить изучение терапевтической эффективности разных методов лечения коров, больных эндометритом, и разработку мероприятий по профилактике этого заболевания.

Литература

1. Дюльгер, Г. Многоплодная беременность у коров / Г. Дюльгер, Е. Седлецкая // Ветеринария с.-х. животных. – 2013. – № 12. – С. 34–38.
2. Кротов, Л. Н. Цитологическое исследование влагалищной слизи коров для оценки и прогноза патологических состояний органов размножения / Л. Н. Кротов // Ветеринария. – 2012. – № 4. – С. 40–42.
3. Влияние миотропных препаратов на сократительную функцию матки больных эндометритом коров / А. Г. Нежданов [и др.] // Ветеринария. – 2013. – № 1. – С. 33–35.
4. Сулейманов, М. С. Факторы защиты и морфофункциональные изменения при послеродовом эндометрите у коров / М. С. Сулейманов // Ветеринария. – 2012. – № 2. – С. 48–50.

Поступила 15.05.2017 г.

УДК 619:614.95:636.2.053;612.017.1

А. Ф. Железко

ПОВЫШЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА ТЕЛЯТ ПРОФИЛАКТОРНОГО ПЕРИОДА ВЫРАЩИВАНИЯ ПУТЕМ ВВЕДЕНИЯ В РАЦИОН ЯБЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ

*УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия
ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь*

Введение

Современные задачи, стоящие перед агропромышленным комплексом, предусматривают дальнейшее увеличение объемов производства и экспорта скотоводческой продукции. Значительная роль при этом отводится специалистам в области ветеринарии, важнейшей из функций которых является организация и проведение зооигиенических мероприятий, направленных на повышение жизнеспособности, продуктивности и сохранности телят. Непременное условие для решения данных задач – экономическая эффективность. Основу зооигиенических мероприятий при выращивании телят должен составлять принцип повышения естественной резистентности организма [1].

Уровень естественных защитных сил организма телят имеет тенденцию постепенно повышаться от рождения до полной стабилизации в зрелом возрасте. Периоды ослабления динамики естественной резистентности наиболее выражены в первую неделю жизни при переводе на общее молоко и безмолочный тип кормления. Они могут наблюдаться при последующих изменениях рациона и перегруппировках. Следует отметить, что в значительной степени естественная устойчивость организма определяется уровнем благополучия животных, в частности кормлением и условиями содержания. Если они благо-

приятные, то эти периоды протекают без резких колебаний иммунного статуса. В противном случае наблюдаются резкие его спады (иммунодефициты), получившие название «критические периоды выращивания», приводящие к снижению приростов живой массы, заболеваемости и непроизводительному выбытию животных [5].

Одним из путей коррекции естественной резистентности организма телят в критические периоды выращивания является введение в рацион биологически активных веществ: витаминов, макро- и микроэлементов, ферментов и др. Стимулируют обменные процессы в организме животных и органические кислоты [2].

В контексте применения в качестве кормовых добавок особый интерес представляют органические кислоты, участвующие в цикле Кребса. Результаты исследований ряда авторов свидетельствуют о том, что введение в корма органических кислот способствует активизации метаболических процессов, улучшению вкусовых качеств кормов, повышению их поедаемости и биоконверсии. Кроме того, органические кислоты обладают бактерицидным действием и являются экологически безопасными консервантами. В настоящее время органические подкислители кормов широко применяют в рационах сельскохозяйственной птицы и свиней. Муравьиную кислоту с успехом используют в качестве консерванта молока. Имеются сведения о положительных результатах, полученных при скармливании янтарной кислоты крупному рогатому скоту. Однако данные о применении органических кислот в качестве биологически активных кормовых добавок в скотоводстве единичны, что создает предпосылку для их дальнейшего изучения [3, 4].

Цель исследований – повысить уровень естественной резистентности и продуктивности телят профилакторного периода выращивания путем введения в рацион яблочной кислоты.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в условиях молочно-товарной фермы «Подберезье» сельскохозяйственного производственного кооператива «Ольговское» Витебского района Витебской области. Для проведения научно-хозяйственного опыта по принципу условных аналогов были подобраны четыре группы телят 1–2-дневного возраста по 5 голов в каждой. Телята первой группы служили контролем и яблочную кислоту не получали. В рацион телят второй, третьей и четвертой (опытных) групп в течение 15 дней в смеси с молозивом (молоком) вводили яблочную кислоту в дозировках 30, 40 и 50 мг/кг живой массы соответственно. Взятие проб крови для лабораторных анализов и контрольные взвешивания животных проводили при постановке в опыт в 1–2-дневном возрасте и по окончании периода исследований (после 15-дневного применения яблочной кислоты). При осуществлении исследований использовали общепринятые зоогигиенические, иммунологические, гематологические, зоотехни-

ческие и экономические методы. Определяли иммунологические (бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови, фагоцитарную активность нейтрофилов, содержание общего белка и его фракций), морфологические и биохимические (количество лейкоцитов, эритроцитов, содержание гемоглобина, активность ферментов аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы) показатели. Контролировали случаи заболеваний, вынужденного убоя и падежа подопытных животных, приросты живой массы телят, а также условия содержания и рацион кормления телят. Рассчитывали экономическую эффективность от введения яблочной кислоты в рацион телят. При проведении исследований подопытные животные подвергались всем плановым ветеринарным мероприятиям, проводимым в хозяйстве.

Результаты и их обсуждение

Условия содержания и кормление подопытных телят при проведении исследований соответствовали требованиям принятой технологии. Температура воздуха в различных точках рабочей зоны колебалась от 3 °С до 13 °С и составляла в среднем 8 °С. Относительная влажность воздуха поддерживалась на уровне 65,0–74,0 %. Скорость движения воздуха (0,13–0,18 м/с) и содержание в нем аммиака (3–5 мг/м³) соответствовали зоогигиеническим требованиям. Микробная загрязненность воздуха регистрировалась в пределах 34,8–46,4 тыс. м.т/м³, не превышая допустимую концентрацию. Рацион кормления телят состоял из молозива (с 1-го по 8-й день), молока и сухой молочной смеси (с 8-го дня). Болезни молочной железы у коров-кормилиц в период проведения опыта не диагностировались.

В результате лабораторных исследований было установлено, что гуморальные факторы естественной защиты организма телят при постановке в опыт находились в пределах физиологических колебаний и соответствовали возрастной норме: бактерицидная активность сыворотки крови, % регистрировалась на уровне $44,64 \pm 0,43$ – $45,81 \pm 0,90$, лизоцимная активность сыворотки крови, % – от $2,37 \pm 0,03$ до $2,49 \pm 0,08$. После 15-дневного скармливания яблочной кислоты показатели бактерицидной активности сыворотки крови у животных второй и третьей опытных групп, получавших изучаемую добавку в дозах 40 и 50 мг/кг живой массы соответственно, достоверно увеличились относительно контроля – на 10,05 и 10,87% соответственно, составляя при этом $55,89 \pm 0,85$ и $56,13 \pm 1,16$ % по сравнению с $51,02 \pm 1,80$ в контроле. Аналогичная тенденция в конце опыта отмечалась по лизоцимной активности сыворотки крови, которая у животных второй и третьей опытных групп также превысила данный показатель телят контрольной группы, составляя при этом $3,35 \pm 0,22$ и $3,83 \pm 0,34$ % соответственно, по сравнению с $2,68 \pm 0,05$ в контроле. Достоверного увеличения относительно контроля бактерицидной активности сыворотки крови и лизоцимной активности сыворотки крови у телят первой опытной группы, получавших яблочную кислоту в дозе 30 мг/кг живой массы, не регистрировалось.

Биохимические показатели крови телят контрольной и опытных групп в начале исследований находились в физиологических пределах и соответствовали возрастной норме, без статистически значимых отличий между группами. Содержание общего белка варьировалось на уровне, г/л: $57,53 \pm 0,57$ – $59,92 \pm 2,25$, альбуминов, г/л: $28,20 \pm 0,43$ – $29,23 \pm 0,88$, α -глобулинов, г/л: $10,07 \pm 0,57$ – $11,49 \pm 0,43$, β -глобулинов, г/л: $9,07 \pm 0,39$ – $9,22 \pm 0,48$, γ -глобулинов, г/л: $10,04 \pm 0,51$ – $10,43 \pm 0,53$. В конце опытного периода содержание общего белка в сыворотке крови животных второй и третьей опытных групп по сравнению с контролем статистически значимо увеличилось на 12,05 и на 15,17 % соответственно, составляя при этом, г/л: $70,09 \pm 0,59$ ($p < 0,01$) и $72,04 \pm 0,74$ ($p < 0,01$) по сравнению с $62,56 \pm 0,53$ г/л в контроле. Достоверного увеличения содержания общего белка в сыворотке крови опытных животных первой группы, получавших яблочную кислоту в минимальной дозе, не наблюдалось. Следует отметить, что превышение содержания общего белка в сыворотке крови телят опытных групп произошло в основном за счет увеличения содержания γ -глобулинов, уровень которых в сыворотке крови телят второй и третьей опытных групп по окончании исследований составил, г/л: $13,24 \pm 0,75$ и $14,04 \pm 0,94$ соответственно по сравнению с $10,84 \pm 0,62$ в контроле.

Диапазон гематологических показателей телят контрольной и опытных групп в начале исследований находился в пределах физиологической нормы. Содержание лейкоцитов, 10^9 /л, варьировалось на уровне от $9,64 \pm 0,54$ до $9,70 \pm 0,27$; эритроцитов, 10^{12} /л – от $7,7 \pm 0,30$ до $7,62 \pm 0,29$; гемоглобина, г/л: – от $93,86 \pm 0,63$ до $96,03 \pm 1,14$. После 15-дневного введения в рацион яблочной кислоты уровень содержания лейкоцитов и эритроцитов в крови животных первой, второй и третьей опытных групп также находился в физиологических пределах, составляя соответственно: лейкоциты, 10^9 /л: $9,57 \pm 0,23$, $9,64 \pm 0,23$ и $9,63 \pm 0,19$ по сравнению с $9,08 \pm 0,53$ в контроле; эритроциты, 10^{12} /л – $8,24 \pm 0,51$, $8,32 \pm 0,21$ и $8,31 \pm 0,22$ по сравнению с $7,89 \pm 0,36$ в контроле, без статистически значимых отличий между группами. Несколько иная картина отмечалась по уровню гемоглобина, содержание которого в крови телят второй и третьей опытных групп, получавших яблочную кислоту в дозах 40 и 50 мг/кг массы, увеличилось на 6,13 и 7,36 % соответственно, составляя при этом, г/л: $106,46 \pm 1,57$ ($p < 0,05$) и $107,67 \pm 1,63$ ($p < 0,05$) по сравнению с $100,41 \pm 1,50$ в контроле.

Активность аспартатаминотрансферазы в начале опыта у телят контрольной и опытных групп находилась на уровне $0,35 \pm 0,02$ – $0,39 \pm 0,01$ мккатал/л, а уровень активности аланинаминотрансферазы варьировался в пределах $0,46 \pm 0,01$ – $0,48 \pm 0,01$ мккатал/л, без достоверных различий между группами. В конце опыта у телят первой, второй и третьей опытных групп активность аспартатаминотрансферазы составила соответственно: $0,42 \pm 0,01$, $0,39 \pm 0,04$ и $0,43 \pm 0,01$ мккатал/л по сравнению $0,41 \pm 0,01$ мккатал/л в контроле, а активность аланинаминотрансферазы – $0,52 \pm 0,02$, $0,57 \pm 0,01$ и $0,50 \pm 0,01$ мккатал/л против $0,53 \pm 0,02$ мккатал/л в контроле. Достоверных различий по активности

указанных ферментов в контроле и у телят, получавших изучаемую подкисляющую добавку, в конце опыта не установлено, что косвенно свидетельствует об отсутствии токсического действия яблочной кислот на организм телят.

Стимуляция естественных защитных сил организма телят введением в рацион яблочной кислоты способствовала повышению продуктивности животных. Установлено, что при постановке в опыт средняя живая масса телят составляла, кг: в контрольной группе – $25,71 \pm 0,36$; в первой опытной группе – $25,68 \pm 0,36$; во второй опытной группе – $26,56 \pm 0,34$; в третьей опытной группе – $25,77 \pm 0,48$ без достоверных различий между группами. В конце опыта данный показатель регистрировался, кг: в контрольной группе на уровне $33,09 \pm 0,41$; в первой опытной группе – $33,10 \pm 0,39$; во второй опытной группе – $34,07 \pm 0,42$; в третьей опытной группе – $33,30 \pm 0,96$. Среднесуточные приросты живой массы телят второй опытной группы, получавших яблочную кислоту в дозе 40 мг/кг живой массы, превышали контроль на 4,84 %, а телят третьей опытной группы, получавших яблочную кислоту в дозе 50 мг/кг живой массы, – на 6,14%, составляя при этом $501 \pm 14,97$ и $503 \pm 50,61$ г соответственно по сравнению с $492 \pm 39,11$ г в контрольной группе. Достоверного превышения контроля по приросту живой массы у телят первой опытной группы, в рацион которой яблочную кислоту вводили в дозе 30 мг/кг живой массы, не установлено.

Заболеваний и падежа подопытных телят за время проведения научно-хозяйственного опыта не регистрировалось. Сохранность телят контрольной и опытных групп составила 100 %.

Таким образом, ежедневное введение в рационы телят в течение первых 15 дней после рождения яблочной кислоты в дозе 40 и 50 мг/кг живой массы способствует повышению уровня естественной резистентности организма: бактерицидной активности сыворотки крови – на 10,05 и 10,87 %, содержания общего белка в сыворотке крови – на 12,05 и 15,17 %, содержания гемоглобина в крови – на 6,13 и 7,36 %, что способствует увеличению приростов живой массы телят на 4,84 и 6,14 % соответственно.

Проведенные расчеты подтверждают целесообразность применения яблочной кислоты для повышения уровня естественной резистентности и продуктивности телят в профилактический период выращивания. Экономическая эффективность от введения в рацион телят яблочной кислоты в дозах 40 и 50 мг/кг живой массы составляет 1,98 и 1,40 руб. соответственно, в расчете на 1 рубль затрат.

Заключение

Для повышения естественной резистентности организма телят в профилактический период выращивания рекомендуется в течение первых 15 дней после рождения вводить в их рацион яблочную кислоту в дозе 40 мг/кг живой массы.

Литература

1. Выращивание новорожденных телят : метод. рекомендации / А. Трофимов [и др.] // Кормление с.-х. животных и кормопроизводство. – 2007. – № 2. – С. 33–36.
2. Медведский, В. А. Повышение резистентности сельскохозяйственных животных биологически активными веществами / В. А. Медведский, А. Ф. Железко, И. В. Щебеток. – Бейрут, 2003. – 53 с.
3. Методические рекомендации по применению подкислителей в производстве комбикормов для сельскохозяйственных животных и птицы / Г. С. Корнилович [и др.] ; под ред. В. М. Пелушко, И. В. Корсеко. – Минск, 2010. – 51 с.
4. 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.
5. Соколов, Г. А. Ветеринарная гигиена / Г. А. Соколов. – Минск : Дизайн ПРО, 1998. – 160 с.

Поступила 10.07.2017 г.

УДК 636.2.087.9

В. Ф. Радчиков, Е. А. Шнитко

СОРБИРУЮЩАЯ ДОБАВКА С ВКЛЮЧЕНИЕМ ПРО-, ПРЕ- И СИНБИТИКОВ ДЛЯ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству», г. Жодино, Минская обл., Беларусь*

Введение

Главная задача всех отраслей сельского хозяйства, в том числе и животноводства, – повышение рентабельности, что предполагает увеличение объемов производства при снижении себестоимости продукции. Этого можно добиться только в том случае, если животные обладают крепким здоровьем и устойчивостью к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды [3]. Современные условия производства продукции животноводства требуют комплексных препаратов для профилактики и лечения нарушений обмена веществ, заболеваний желудочно-кишечного тракта и др. [1].

В связи с этим мы попытались соединить в одной кормовой добавке сорбенты, пробиотики и пребиотики. Данная композиция считается эффективным элементом технологии производства безопасной продукции животноводства и птицеводства [4]. Сорбированные про- и пребиотики содержат бактерии, иммобилизованные на частицах твердого сорбента. За счет химических и электростатических сил взаимодействие таких форм со стенкой кишечника выше. Сорбенты ускоряют дезинтоксикацию и репаративный процесс. Они обладают

относительно хорошей сорбционной и ионообменной способностью, имеют сильно развитый поверхностный каркас с порами разного диаметра, способными взаимодействовать с различными веществами и клетками про- и пребиотика. Биологическая активность таких препаратов связана с тем, что микробная масса живых про- и пребиотических бактерий иммобилизована на сорбенте, благодаря чему они лучше выживают и быстрее заселяют кишечник [2]. Композиции цеолиты + пробиотик + пребиотик обладают выраженными иммунокорректирующими свойствами [5], нормализуют микробиоценоз желудочно-кишечного тракта, повышают неспецифическую резистентность организма, стимулируют функциональную деятельность пищеварительной системы, обладают детоксикационными свойствами.

Кроме того, использование данной кормовой добавки имеет актуальное значение не только для животноводства, но и для здравоохранения в целях снижения риска заболеваемости людей и повышения экологической безопасности сельскохозяйственной продукции [4].

Цель исследований – повысить эффективность выращивания молодняка крупного рогатого скота путем применения добавок на основе трепела, про-, пре- и синбиотиков.

В задачи исследований входило:

- изучить поедаемость кормов;
- определить влияние скармливания добавок на основе трепела на физиологическое состояние животных;
- установить продуктивность молодняка крупного рогатого скота при использовании рационов с включением добавок на основе трепела.

Материалы и методы исследований

Научно-хозяйственные опыты проведены в РУП «Экспериментальная база «Жодино» Смолевичского района Минской области на молодняке крупного рогатого скота согласно схеме опытов (табл. 1).

Для опыта было сформировано четыре группы животных черно-пестрой породы в возрасте 6–7 месяцев, по принципу пар-аналогов по 14 голов в каждой.

Таблица 1. Схема опытов

Группа	Живая масса в начале опыта, кг	Особенности кормления
I (контрольная)	164,5 ± 0,9	Основной рацион + комбикорм КР-3
II (опытная)	163,9 ± 0,9	Основной рацион + добавка № 1 в составе комбикорма КР-3
III (опытная)	165,1 ± 0,8	Основной рацион + добавка № 2 в составе комбикорма КР-3
IV (опытная)	163,6 ± 0,8	Основной рацион + добавка № 3 в составе комбикорма КР-3

Примечание: количество животных в каждой группе – 14 голов; продолжительность опыта – 93 дня; ОР – основной рацион.

Добавка № 1 состояла из трепела и пробиотка Биомикс-Вет, добавка № 2 – из трепела и пребиотика Биомос, добавка № 3 – из трепела и синбиотика (Биомикс + Биомос). В качестве сорбента использовали малоизученный трепел белорусского месторождения.

Кормление животных осуществляли согласно схеме, принятой в хозяйстве. Особенности кормления заключались в том, что молодняк второй опытной группы в составе комбикорма получал добавку № 1, животные третьей опытной группы – добавку № 2, молодняк четвертой опытной группы – добавку № 3.

Для контроля за физиологическим состоянием животных и качеством протекающих в организме обменных процессов у трех животных из каждой группы через 2,5–3,0 ч после утреннего кормления из яремной вены была взята кровь и исследованы ее показатели:

- морфологический состав: эритроциты, лейкоциты и гемоглобин прибором Medonic CA 620 (в цельной крови);

- биохимический состав сыворотки крови: общий белок, альбумины, глобулины, мочевины, глюкоза, холестерин, Ca, P, Mg, Fe – прибором CORMAY LUMEN;

- состояние естественной резистентности – по тестам, характеризующим гуморальные факторы защиты: бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК) – фотоколориметрическим методом по О. В. Смирновой и Т. А. Кузьминой (1966) в модификации Ю. М. Марковой с соавт. (1968); лизоцимная активность сыворотки крови (ЛАСК) – фотоколориметрическим методом по В. Т. Дорофейчуку; β -лизинная активность сыворотки крови – методом О. В. Бухарина (1970).

Результаты и их обсуждение

В основной рацион животных входили силос, сенаж и комбикорм КР-3. В результате учета расхода кормов установлено, что животные контрольной группы получали 5,05 кормовых единиц, 54,4 МДж обменной энергии, 504 г переваримого протеина.

Молодняк второй, третьей и четвертой опытных групп потреблял 5,06, 5,01, 5,26 к. ед. – 53, 54,3, 57,2 МДж ОЭ, 507, 500, 526 г переваримого протеина соответственно.

Кровь, являясь внутренней средой, выполняет важную роль в организме, ведь в ней, как в зеркале, отражаются все изменения, происходящие в организме. Для контроля за физиологическим состоянием животных в процессе проведения опыта были взяты образцы крови подопытного молодняка.

Все изучаемые показатели морфо-биохимического состава крови у подопытного молодняка всех групп в учетные периоды опытов находились в пределах физиологической нормы и не имели существенных различий (табл. 2). Вместе с тем следует отметить, что в крови животных опытных групп установлено повышение содержания эритроцитов, гемоглобина, общего белка,

глюкозы, показателей естественной резистентности организма БАСК и ЛАСК по сравнению с контролем. Это говорит о том, что скормливание молодняку крупного рогатого скота трепела с пробиотиком, пребиотиком и синбиотиком оказывает положительное влияние на физиологическое состояние животных.

Таблица 2. Состав крови подопытных животных

Показатель	Группа			
	первая	вторая	третья	четвертая
Гемоглобин г/л	98,60 ± 0,44	107,40 ± 0,42	108,30 ± 0,70	111,00 ± 0,82
Эритроциты млн/мм	5,18 ± 0,01	5,80 ± 0,03	5,90 ± 0,02	6,20 ± 0,19
Лейкоциты тыс/мм	8,40 ± 0,09	7,30 ± 0,21	7,20 ± 0,15	6,20 ± 0,13
Общий белок г/л	76,20 ± 1,30	78,80 ± 0,92	79,30 ± 1,54	82,40 ± 1,10
Глюкоза мМоль/л	2,90 ± 0,09	3,10 ± 0,15	3,20 ± 0,23	3,40 ± 0,21
Мочевина мМоль/л	5,20 ± 0,20	4,30 ± 0,06	4,32 ± 0,15	3,77 ± 0,09
Кальций, мМоль/л	2,60 ± 0,06	2,87 ± 0,12	2,92 ± 0,03	3,00 ± 0,12
Фосфор, мМоль/л	1,50 ± 0,06	1,63 ± 0,09	1,65 ± 0,03	1,70 ± 0,03
БАСК, %	61,05 ± 0,75	63,00 ± 0,83	63,3 ± 0,44	63,80 ± 0,42
ЛАСК, %	6,17 ± 0,09	6,72 ± 0,12	6,70 ± 0,12	6,83 ± 0,03
Кислотная емкость, мг/100мл	493,00 ± 2,65	512,00 ± 2,52	514,70 ± 2,40	526,70 ± 2,40

Исследования динамики живой массы и среднесуточных приростов показали, что более высокой интенсивностью роста отличался молодняк опытных групп (табл. 3). Применение подопытным животным второй группы комбикорма КР-3, включающего добавку № 1, повысило среднесуточный прирост на 6,5 %. При включении в комбикорм добавки № 2 прирост повысился на 5,6 %. Лучшие результаты были получены при скормливании комбикорма с добавкой № 3: среднесуточный прирост составил 861 г, что выше контроля на 93 г.

Таблица 3. Динамика живой массы и среднесуточные приросты подопытных животных

Показатель	Группа			
	первая	вторая	третья	четвертая
Живая масса, кг:				
в начале опыта	164,5 ± 0,9	163,9 ± 0,9	165,1 ± 0,8	163,6 ± 0,8
в конце опыта	235,9 ± 2,4	240,0 ± 3,0	240,5 ± 2,2	243,6 ± 1,8*
Валовой прирост, кг	71,4 ± 2,2	76,1 ± 2,4	75,4 ± 2,1	80,1 ± 1,5**
Среднесуточный прирост, г	768,0 ± 23,8	818,0 ± 25,4	811,0 ± 22,0	861,0 ± 16,5**
Процент к контролю	100,0	106,5	105,6	112,1

*P < 0,05.

**P < 0,02.

Заклучение

Использование изучаемых кормовых добавок в рационе молодняка крупного рогатого скота оказывает положительное влияние на физиологическое состояние животных, что обеспечивает увеличение среднесуточных приростов живой массы на 5,6–12,1 %.

На основании проведенных исследований установлено, что наивысшая продуктивность получена у животных, в состав комбикорма которых входила кормовая добавка, состоящая из сорбента и синбиотика.

Литература

1. Богатырев, И. Н. Использование биопрепаратов в кормлении животных для получения экологически чистого сырья / И. Н. Богатырев // Современное комбикормовое производство и перспективы его развития. – М. : МПА, 2003. – С. 84–88.
2. Кузнецов, С. Г. Природные цеолиты в кормлении животных / С. Г. Кузнецов // Зоотехния. – 1993. – № 9. – С. 13.
3. Синбиотики – белковый кормовой продукт 21 века / Л. А. Неминушая [и др.] // Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов : сб. материалов Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 40-летию ин-та. – Щелково, 2009. – С. 489–497.
4. Характеристика биологических препаратов и пищевых добавок для функционального питания и коррекции микрофлоры кишечника / В. М. Коршунов [и др.] // Микробиология. – 2000. – № 3. – С. 86–91.
5. Effects of feeding antibioticfree creep feed supplemented with oligofructose, probiotics or synbiotics to suckling piglets increases the preweaning weight gain and composition of intestinal microbiota / S. B. Shim [et al.] // Archives of Animal Nutrition. – 2005. – Vol. 59. – P. 419–427.

Поступила 26.05.2017 г.

УДК 636.52/58:08.5/087

**В. А. Величко¹, И. К. Авдосьева¹, В. Г. Каплуненко²,
В. В. Регенчук¹, О. Б. Басараб¹**

ГЕРМАКАП – ЭФФЕКТИВНАЯ КОРМОВАЯ СМЕСЬ, ИЗГОТОВЛЕННАЯ НА ОСНОВЕ СОВРЕМЕННОЙ НАНОТЕХНОЛОГИИ, ДЛЯ ПТИЦЕВОДСТВА

¹*Государственный научно-исследовательский институт
ветеринарных препаратов и кормовых добавок, г. Львов, Украина*

²*ООО «Нанотехнологии и наноматериалы», г. Киев, Украина*

Введение

Повышение эффективности отрасли птицеводства в значительной степени обусловлено совершенствованием существующих и разработкой новых технологий производства продукции. При этом особое значение придается технологическим приемам производства кормовых полнорационных смесей на основе редких природных микроэлементов, произведенных по современной

нанотехнологии в качестве дешевого и доступного источника микроэлементов и биостимуляторов. Практика подтверждает, что такие полнорационные смеси позволяют повышать продуктивность животных и птицы, эффективно профилактировать вирусные и бактериальные инфекции, корректировать иммунный статус [4, 5].

В Украине, как и в мире, проблему насыщения кормов для животных жизненно необходимыми микроэлементами решают за счет неорганических солей металлов и их хелатных соединений, что по своему составу и структуре недостаточно соответствует необходимым физиологическим параметрам животных и лишь незначительно ими усваивается. В результате наблюдается накопление солей неорганических металлов в окружающей среде, ухудшается экологическое состояние, снижается качество получаемых продуктов питания. По строению эти функциональные нанобиоматериалы представляют собой комплексные соединения, в которых в роли комплексообразователя выступают наночастицы, электрически заряженные со знаком «минус», т. е. функционализация наночастиц осуществляется за счет наличия на их поверхности электрических зарядов. Возможность получения именно таких наночастиц дает эрозионно-взрывная нанотехнология, основанная на новом физическом эффекте в области концентрации высоких энергий.

Предварительные исследования подтверждают, что перспективным направлением в решении проблемы обогащения кормов для животных эссенциальными биометаллами является использование их именно в той форме, в которой они присутствуют и функционируют в организме, т. е. в форме карбоксилатов пищевых кислот, прежде всего, в виде цитратов, которые при попадании в клетку непосредственно принимают участие в одном из главных энергетических обменных циклов – цикле Кребса. Однако цитраты металлов, полученные классическими химическими методами, не всегда соответствуют требованиям чистоты, а технологии их получения трудоемкие и дорогие.

В Украине создано приоритетное направление в нанотехнологии, с помощью которого получены карбоксилаты пищевых кислот, даже таких низкорекционных благородных металлов, как золото и серебро (цитраты, сукцинат и аскорбат серебра и золота) и сверхчистые карбоксилаты основных пищевых кислот биогенных металлов (цинка, магния, калия, марганца, железа, меди, кобальта, молибдена, хрома, селена, кремния, германия, ванадия).

Получение карбоксилатов осуществляется в два этапа:

- путем диспергирования высокочистых гранул соответствующих металлов импульсами электрического тока в деионизированной воде получают водный коллоидный раствор наночастиц микроэлементов;

- с помощью реакции прямого взаимодействия высоко химически активных наночастиц с пищевой карбоновой кислотой.

Поскольку в число реагентов не входят другие вещества, а наночастицы полностью участвуют в химической реакции образования солей карбоновых кислот, в результате образуются продукты высокой химической чистоты и, что

особенно важно, не содержащие реакционных наночастиц элементарного металла. При получении указанных карбоксилатов были применены нанотехнологии, потому названы они были «нанокарбоксилаты» и формально отнести их можно к одной из групп наноаквахелатов. Использование в ветеринарии микроэлементов именно в виде связанных соединений – нанокарбоксилатов, а не свободных наночастиц этих микроэлементов, снимает одну из очень важных и, по нашему мнению, полностью обоснованных проблем – возможных рисков для здоровья животных и людей со стороны высокореактогенных и мало контролируемых наночастиц, свойства которых постоянно меняются с течением времени и изменением среды [4, 5]. На сегодня все более перспективным становится использование кормовых смесей на основе редких природных микроэлементов, в том числе нанокарбоксилата германия, произведенного по современной нанотехнологии.

В 1967 г. доктор К. Асаи обнаружил, что германий обладает широким спектром биологического действия: переносит кислород в ткани организма, стимулирует иммунитет, способствует продуцированию гамма-интерферонов, которые подавляют процессы размножения быстро делящихся микробных клеток, активируют макрофаги и специфические клетки иммунитета (Т-клетки), задерживает развитие злокачественных новообразований и препятствует появлению метастазов, обладает защитными свойствами против радиоактивного облучения. Механизм его действия связывают с взаимодействием атома германия с отрицательно заряженными частицами опухолевых образований. Германий лишает опухолевую клетку «лишних» электронов и повышает ее электрический заряд, что приводит к гибели опухоли, проявляет биоцидное воздействие (противогрибковое, противовирусное, антибактериальное) [2, 3, 5].

Впервые в Украине сотрудниками ГНИКИ ветпрепаратов и кормовых добавок, ООО «Наноматериалы и нанотехнологии» и ООО «Гал-ПЛЮС» разработана на основе нанокарбоксилата германия «Смесь кормовая микроэлементная «ГЕРМАКАП» для птицы, сельскохозяйственных и непродуктивных животных» ТУ У 10.9-37205301-009:2014.

Гермакап представляет собой прозрачную гомогенную жидкость с бледно-желтым оттенком, содержит германий в форме цитрата – 1000 мг/л, цинк в форме цитрата – 1000 мг/л, серебро в форме цитрата – 10 мг/л.

Смесь «ГЕРМАКАП» изготовлена на основе карбоксилатов микроэлементов германия, серебра и цинка и предназначена для повышения неспецифической резистентности и продуктивности, интенсивности роста и развития организма, профилактики бактериальных и вирусных заболеваний. Данная смесь способствует: индукции гамма-интерферонов, основным направлением действия которых на уровне организма являются противовирусная и противоопухолевая защита; коррекции иммунного статуса при различных заболеваниях; укреплению иммунитета, повышению иммунного ответа организма на вакцинацию после длительного использования антибиотиков; защите организма от отравлений, стрессов, неблагоприятных условий окружающей среды, перед

сменой состава рационов, а также проявляет высокое антиоксидантное и адаптогенное действие, не токсична [1–3].

Цель исследований – изучить вируцидные и антибактериальные свойства гермакапа и его влияние на эффективность специфической профилактики против вирусных заболеваний птицы, а также на экономические показатели при выращивании бройлеров.

Материалы и методы исследований

«Смесь кормовая микроэлементная “ТЕРМАКАП”» производства ООО «Нано-материалы и нанотехнологии» и ООО «ГАЛ-ПЛЮС» (Украина), бройлеры – РОСС-308; вакцины против: вирусных заболеваний фирмы «СЕВА» – против инфекционного бронхита (ИБК) Севак Ibird (вариантный штамм "1/96); инфекционной бурсальной болезни (ИББ) Севак ИБХ Л (штамм Винтерфилд 2512 G61); ньюкаслской болезни (НБ) – Севак НБЮ Л. Тест-системы для определения антител к ИБК и ИББ методом ИФА фирмы Биочек; набор для определения антител к вирусу НБ в реакции задержки гемагглютинации (Россия).

Антивирусное действие гермакапа определяли экспресс-методом согласно методическим указаниям «Экспресс-метод определения антивирусного действия лекарственных препаратов для ветеринарной медицины» (Киев, 2008) [2], а антибактериальные свойства гермакапа – согласно методическим указаниям «Экспресс-метод определения антимикробного действия лечебных препаратов (субстанций) для ветеринарной медицины» (Львов, 2013) [1].

Производственные испытания гермакапа проводили на бройлерах, которые выращивали в двух птичниках: группа (опыт) – 19 800 гол. и группа (контроль) – 21 000 гол. Гермакап в группе (опыт) задавали бройлерам в дозе 0,01 мкг/см³, что эквивалентно 10 см³ смеси на 1 т воды перорально с питьевой водой с помощью дозатора, установленного на линии водоснабжения с 5-х по 9-е сут., с 23-х по 27-е сут.; группе (контроль) смесь не задавали. Вакцинацию бройлеров проводили по схеме: против ИБК и НБ – в суточном возрасте, против ИББ – в 12-суточном, против ИБК – в 14-суточном, против НБ – в 19-суточном возрасте. Напряженность иммунитета определяли в возрасте 42 сут. до ИБК и ИББ методом иммуноферментного анализа (ИФА), НБ – в реакции задержки гемагглютинации (РЗГА). Одновременно учитывали клиническое состояние птицы, процент сохранности, прироста и затраты корма.

Технологические параметры выращивания бройлеров были выдержаны в соответствии с нормами ОНТП-2005. Кормление осуществляли по нормам, которые рекомендованы для кросса РОСС-308.

Результаты и их обсуждение

Данные антивирусного действия гермакапа, которые определяли экспресс-методом, представлены в табл. 1.

Таблица 1. Вирулицидная активность гермакапа

Название	Интестифаг	Стафилококковый бактериофаг
Гермакап	+	+
Контроль – амиксин	+	+
Контроль – стафилококковый фаг	0	0
Контроль – интестифаг	0	0

Примечание: 0 – «наличие лизиса» – отрицательный результат; + – «отсутствие лизиса» – положительный результат.

Противовирусное действие гермакапа установили за отсутствием зон лизиса на месте нанесения гермакапа и противовирусного препарата «Амиксин» со стафилококковым бактериофагом и интестифагом (блокировка репродукции бактериофага и интестифага в клетках бактериальной культуры). В контрольных чашках отмечали наличие зон лизиса под действием фагов, а именно: на месте нанесения стафилококкового бактериофага на поверхность агара с культурой *St. aureus*-209 и интестифага – *E. coli* 25922. Таким образом, было установлено, что гермакап обладает вирулицидными свойствами.

Антимикробное действие гермакапа установили по задержке роста *St. aureus*-209 и *E. coli* 25922 вокруг дисков из гермакапа в сравнении с дисками с ципрофлоксацином (действие *St. aureus*-209) и амикацином (действие *E. coli* 25922).

Таким образом, было установлено, что кормовая микроэлементная смесь «Гермакап» обладает противовирусными и антимикробными свойствами.

Данные производственных показателей применения гермакапа при выращивании бройлеров приведены в табл. 2.

Таблица 2. Результаты производственных показателей при применении гермакапа

Показатель	Опыт	Контроль	Сравнение опыт/контроль
Количество бройлеров, тыс. гол.	19,8	21,0	–
Живая масса в конце откорма, г	2658	2581	+77
Масса тушки, г	1982,8	1915,1	+67,7
Убойный выход, %	74,6	74,2	–0,4
Среднесуточный прирост, г	59,8	58,6	+1,2
Сохранность, %	96,2	95	+1,2
Конверсия корма, кг/кг	1,8	1,87	–0,08
Европейский индекс эффективности, ед.	338,2	320	+18,2

Производственные показатели в опытной группе бройлеров были выше: среднесуточный прирост массы тела бройлеров увеличился на 2,0 %, средний вес одной головы – на 3,0, сохранность – на 1,2; европейский индекс эффективности – на 5,7 %. При использовании гермакапа конверсия корма была ниже на 3,8 %.

Из данных табл. 3 видно, что средние титры специфических антител к вирусу ИББ и ИБК как в контрольной, так и опытной группах находились на уровне протективных. Однако средний титр к вирусу ИББ в опытной группе по сравнению с контрольной группой был выше в 1,3 раза, а к вирусу ИБК – в 1,7 раза. Средний титр к вирусу НБ в опытной группе был в 1,4 раза выше по сравнению с контролем. Групповой иммунитет в опыте составил 87,5 %, в контроле – 80,0 %.

Таблица 3. Влияние смеси кормовой микроэлементной на эффективность вакцинации против вирусных заболеваний (ИББ, ИБК, НБ) бройлеров (n = 25)

Заболевание	Показатель	Ожидаемый результат	Контроль		Опыт	
			Показатель	Интерпретация результатов	Показатель	Интерпретация результатов
ИББ	Средний титр	2500–10 000	6594	СБН	8680	СБН
	%CV	20–45	18	НБН	20	СБН
	ИВ	100–500	366	СБН	434	СБН
ИБК	Средний титр	2000–10 000	3630	СБН	6077	СБН
	%CV	40–70	38	НБН	45	СБН
	ИВ	50–142	95	СБН	135	СБН
НБ	Средний титр, log ₂	4 и выше	5,0	Н	7,1	Н
	Групповой иммунитет, %	80–100	80	75	87,5	–

Примечание: ИВ – индекс вакцинации; Н – норма; НБН – ниже базовой нормы; СБН – соответствует базовой норме.

Заключение

При применении кормовой смеси «ГЕРМАКАП» при выращивании бройлеров в дозе 10 см³ на 1 т воды перорально с питьевой водой с помощью дозатора, установленного на линии водоснабжения, двумя курсами с 5-х по 9-е сут. и с 23-х по 27-е сут. повысился среднесуточный прирост на 2,0 %, средний вес одной головы – на 3,0, сохранность – на 1,2, европейский индекс эффективности – на 5,7 %; конверсия корма снизилась на 3,8 %.

Средние титры антител к вирусу ИБК, НБ, ИББ повысились в 1,3, 1,4 и 1,7 раза соответственно, а групповой иммунитет против НБ – на 9,3 %.

Преимущество наномикроэлементной смеси кормовой «Гермакап», изготовленной на основе современных нанотехнологий, состоит в том, что она проявляет более высокую биологическую доступность германия в организме птицы по сравнению с микроэлементами, изготовленными на основе сульфатов или хелатов.

Литература

1. Експрес-метод визначення антимікробної дії лікарських препаратів (субстанцій) для ветеринарної медицини : метод. вказівки / І. К Авдос'єва [та інш.]. – Львів. – 2013. – 7 с.
2. Експрес-метод визначення протівірусної дії лікарських препаратів для ветеринарної медицини : метод. вказівки / І. Я. Коцюмбас [та інш.]. – Львів. – 2013. – 10 с.

3. Застосування гермакап суміші кормової мікроелементної у птахівництві : метод. рекомендації / І. Коцюмбас [та інш.]. – Львів, 2016. – 15 с.

4. Наноматериалы и нанотехнологии в ветеринарной практике / В. Б. Борисевич [и др.] ; под ред. В. Б. Борисевича, В. Г. Каплуненка. – Киев : ИД «Авицена», 2012. – 512 с.

5. Перспективи застосування наночастинок металів у ветеринарній медицині / Н. О. Волошина [и др.] // Вет. медицина України. – 2008. – № 9. – С. 32–34.

Поступила 28.06.2017 г.

УДК 619:616.98:636.5

Г. Х. Азаев

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА У ПТИЦ

*ВПО ФГБОУ «Дагестанский аграрный университет имени М. М. Джамбулатова»,
г. Махачкала, Дагестан*

Введение

Серьезнейшую проблему при выращивании производственной птицы представляют инфекционные заболевания вирусной и бактериальной этиологии. В Российской Федерации заболеваемость птицы вирусными и ассоциированными инфекциями достигает 15,0–30,0 %. Основным методом защиты поголовья птицефабрик связан с вакцинацией. Однако негативное влияние техногенных факторов способствует развитию стрессов и иммунодефицитных состояний, что снижает эффективность вакцинации и приводит к «прорыву» иммунитета у птицы. В связи с этим применение экологически чистых и безвредных иммуномодуляторов, противовирусных средств на основе природных биологически активных веществ и других препаратов позволяет проводить иммунорекоррекцию поголовья и увеличивать эффективность слабоиммуногенных вакцин, способствуя также росту птицы и повышению ее сохранности.

Учитывая большой выбор и широкую доступность иммуномодуляторов, при прочих равных условиях, на наш взгляд, предпочтение следует отдавать препаратам, способным не только активировать иммунную систему, но и оказывающим вспомогательное полезное воздействие на организм в зависимости от его потребностей. В частности, это может быть способность стимулировать рост и развитие молодняка, наличие адъювантных свойств, антиоксидантной и противовоспалительной активности, оптимизация формулы крови и т. д.

Наиболее широко в отечественной ветеринарной практике применяют такие иммуномодуляторы, как гамовит, фоспренил, ронколейкин, имунофан, нуклеинат натрия (чаще в составе гамовита), гликопин, риботан и некоторые другие [2].

Фоспренил – продукт фосфорилирования полипренолов древесной хвои. Это уникальный иммуномодулятор с противовирусными свойствами, корректор вторичных иммунодефицитов, стимулятор стволовых кроветворных клеток и макрофагов, также обладающий адъювантной и противовоспалительной активностью. Фоспренил применяют животным и птице без ограничений, начиная с первых дней жизни.

Гамавит – комплексный препарат, основными действующими веществами которого являются нуклеинат натрия и денатурированный экстракт плаценты в сбалансированном питательном растворе, содержащем смесь витаминов, аминокислот и минеральных веществ. Является не только иммуномодулятором, но также активным метаболитом (оптимизирует обмен веществ, стимулирует рост и привесы), адаптогеном (повышает устойчивость организма к стрессам) и детоксикантом [1, 4].

Имунофан – иммуностимулирующий препарат. Представляет собой синтетический гексапептид. Препарат способствует восстановлению врожденных и приобретенных нарушений клеточного и гуморального иммунитета, стимулирует антибактериальную и противовирусную резистентность, а также систему ранней противоопухолевой защиты организма. Имунофан оказывает противовоспалительное, дезинтоксикационное и гепатопротекторное действие [3].

Указанные иммуномодуляторы выпускаются отечественными производителями и допущены для использования в животноводстве. Однако их эффективность в промышленном птицеводстве еще недостаточно изучена.

В этой связи нами проведен опыт по применению этих препаратов для стимуляции резистентности и развития молодняка птицы бройлерной породы в производственных условиях на ООО «Батыр» Республики Дагестан.

Материалы и методы исследований

Опыт был поставлен на ООО «Батыр» (с. Ботаюрт, Хасавюртовский район, Республика Дагестан) в цехе № 2 с общим поголовьем 40 тыс. голов молодняка кросса «Кобб-500» американской породы, с 18 июня по 2 августа 2014 г., до 45 дней развития. Для проведения опыта по принципу аналогов были подобраны четыре группы цыплят по 60 голов, три из которых были опытными, а четвертая – контрольной. На опытных цыплятах проводили вакцинацию против болезни Ньюкасла вакциной Авиныю (Мериал, Франция). Однодневным цыплятам вакцину вводили интраназально с применением иммуномодуляторов, в контрольной группе проводили только вакцинацию без применения препаратов. Повторно вакцинацию делали на 16-й день методом выпаивания. Гамавит и фоспренил, т. е. первую и вторую группу, выпаивали в течение 3 дней в дозе 5 мл на 1 л воды, в третьей группе имунофан вводили каждому цыпленку подкожно в разведении 2 мл на 30 мл инъекционной воды, один раз в дозе 0,5 мл после первой вакцинации согласно инструкции по применению.

Как в опытных, так и в контрольных группах соблюдалась вся технологическая цепочка.

Для оценки состояния цыплят опытных и контрольной групп учитывали такие показатели, как:

- ежедневный контроль сохранности и клинического состояния птицы;
- взвешивание молодняка с выведением средней массы тела с каждой группы;
- напряженность иммунитета после вакцинации против болезни Ньюкасла.

Отбор проб крови проводили трехкратно – на 15-й, 30-й и 45-й день жизни цыплят. Кровь отбирали из подкрыльцевой вены в объеме 1 мл. Исследования крови проводили в Республиканской ветеринарной лаборатории. Сыворотку исследовали на напряженность иммунитета к вирусу болезни Ньюкасла в РЗГА в соответствии с инструкцией по применению.

Результаты и их обсуждение

Эффективность вакцинации цыплят опытных и контрольной групп оценивали по результатам серологических исследований сыворотки крови в РЗГА на напряженность иммунитета против вируса болезни Ньюкасла после вакцинации (см. таблицу). Иммунитет считают напряженным при титрах 1:8 и выше.

Титры антител на 15-й, 30-й и 45-й день жизни цыплят

Группа/титры	Контрольный	Имунофан	Гамовит	Фоспренил
<i>На 15-й день</i>				
1:0	+++		+	
1:4	++++++	+++	++	
1:8	++		++++++	++++++
1:16	++	++		++++
1:32	++	++++	+++++	+++
1:64		++++++	+	
1:128				
1:256				
1:512				
1:1024				
<i>На 30-й день</i>				
1:0	+		++	
1:4	++++		+++	+
1:8				+
1:16	++++++		++	++++
1:32			++++++	+++++
1:64		++	++	+
1:128	+++	+++		
1:256	+	++		+++

Группа/титры	Контрольный	Имунофан	Гамовит	Фоспренил
1:512		+++++		
1:1024		+++		
<i>На 45-й день</i>				
1:0	++	+	+	
1:4	+++++++	+++	++++	+
1:8	+++	+	++	++++
1:16	+	++	+++++	+++++
1:32	++	++++	+++	+++
1:64	+	++++		++
1:128				
1:256				
1:512				
1:1024				

Результаты исследований на 15-й день показали, что наибольшие титры антител были выявлены при применении имунофана (1:64 – у 40,0 % птиц), иммунитет сформировался у 82,0 % птицы, при гамовите – у 78,0 %, наивысшие титры антител 1:64 – у 15,0 % животных. При фоспрениле – у 90,0 %, хотя наивысший титр антител – 1:32. У контрольной группы иммунитет сформировался у 68,0 % цыплят и титры антител – не выше 1:32.

На 30-й день в контрольной группе иммунитет сформировался у 65,0 % птиц, хотя наибольшие титры 1:256 – у 15,0 %, после применения имунофана – 95,0 %, титры антител достигали 1:1024 у 30,0 % птицы, после применения гамовита – 65,0 %, титры антител достигали 1:64 у 15,0 % птицы, при фоспрениле – у 80,0 %, титры антител достигали 1:256 у 20,0 % птицы.

На 45-й день в контрольной группе иммунитет сформировался только у 50,0 % птиц, хотя наибольшие титры в разведении 1:64 – у 15,0 %, при имунофане – у 70,0 %, титры антител достигали 1:64 у 35,0 % птицы, при гамовите иммунитет был сформирован у 65,0 %, титры антител достигали 1:32 у 20,0 % птицы, при фоспрениле – 80,0 %, титры антител достигали 1:64 у 15,0 % птицы.

Заключение

Применение иммуномодуляторов в промышленном птицеводстве (имунофан, гамовит, фоспренил) показало их эффективность. В результате производственного опыта сохранность в опытных группах составила 100 %, в контрольных – 96,0 %, средняя масса одного цыпленка в опытной группе достигала 2960 г, а в контрольной группе – 2490 г. При этом напряженность иммунитета в опытной группе достигла 80,0 %, тогда как в контрольной – всего 65,0 %. Наибольшее влияние на формирование иммунитета бройлеров показал имунофан.

Таким образом, применение иммуномодуляторов гамовит, фоспренил и имунофан совместно с вакциной Авенью против болезни Ньюкасла является эффективным методом повышения резистентности цыплят, что в конечном итоге приводит к повышению сохранности цыплят в условиях промышленного комплекса.

Литература

1. Влияние иммунобиостимуляторов на продуктивность несушек / А. В. Деева [и др.] // Ветеринария. – 2006. – № 6. – С. 8–9.
2. Санин, А. В. Применение иммуномодуляторов при вирусных заболеваниях мелких домашних животных / А. В. Санин // Рос. вет. журн. – 2005. – № 1. – С. 38–42.
3. Санин, А. В. О применении иммуномодуляторов в птицеводстве / А. В. Санин, А. А. Виденина, А. Н. Наровлянский // Птица и птицеводство. – 2012. – № 1. – С. 45–48.
4. Степанов, О. Г. Фармакология и применение имунофана в животноводстве : автореф. дис. ... канд. биол. наук / О. Г. Степанов. – Краснодар, 2004. – С. 5–24.

Поступила 30.06.2017 г.

УДК 619:616.72-002.78:636.5.034

**И. В. Насонов¹, Р. П. Лизун¹, О. В. Милоста²,
Л. Т. Волчек¹, Н. В. Кныш¹**

КОРРЕКЦИЯ СИСТЕМНЫХ НАРУШЕНИЙ АЗОТИСТОГО ОБМЕНА ПРИ МОЧЕКИСЛОМ ДИАТЕЗЕ У ПТИЦ ИННОВАЦИОННЫМ ПРЕПАРАТОМ «УРАМИН»

¹РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелецкого»,
г. Минск, Беларусь

²УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Беларусь

Введение

В отличие от млекопитающих, у которых азотистый обмен завершается в основном мочевиной, у птиц конечным продуктом азотистого обмена является мочева кислота. С учетом этих особенностей следует отметить, что механизм развития заболеваний мочевыводящей системы на биохимическом уровне в значительной степени может быть связан с системными нарушениями азотистого и кальций-фосфорного обменов, а также нарушениями гормонального статуса птиц [2, 3, 5].

Мочекислый диатез (от греческого *diathesis* – предрасположение) – заболевание, характеризующееся повышенным образованием и накоплением мочевой кислоты и ее солей в крови (гиперурикемия) с последующим отложением

кристаллов мочевой кислоты и аморфного мочекислого натрия в различных органах и тканях [1, 2, 4].

Мочекислым диатезом болеют взрослая птица и молодняк. Первые случаи гибели цыплят от подагры регистрируются на 20–30-й день жизни, а максимальный отход регистрируется к 120–130-дневному возрасту. Причем среди причин падежа птицы смертность от подагры составляет до 20,0 %.

Экономический ущерб, причиняемый этой патологией, определяется замедлением роста молодняка, низкой оплатой корма, потерей живой массы, снижением яйценоскости кур и инкубационных свойств яиц, гибелью птицы, вынужденным убоем, утилизацией тушек с признаками висцеральной формы заболевания [1, 2].

В настоящее время не существует ветеринарных препаратов, разработанных для профилактики и лечения подагры у птиц. Лечебные мероприятия носят консервативный характер, а именно, направлены на растворение почечных камней и сохранение функции непораженной части почки. Для этих целей в рационы вводят хлористый аммоний, сульфат аммония, метионин, гидрокарбонат натрия [1, 2, 4].

Однако эффективность лечебно-профилактических мероприятий при этом заболевании достаточно низкая. Именно для повышения результативности этих мероприятий и необходим инновационный препарат для терапии мочекислого диатеза (подагры).

Инновационный лечебно-профилактический препарат против заболевания мочевыводящей системы птиц «Урамин» состоит из смеси калиевых и натриевых солей лимонной кислоты и биологически активных веществ, улучшающих трофические процессы в почках (L-аргинин). В качестве антислеживающей добавки была внесена лактоза в количестве 16,0 %. Биодоступность компонентов препарата при этом приближается к 100 %. Это мелкокристаллический белый порошок без запаха, хорошо растворимый в воде.

Цель исследований – определить эффективность нового комплексного препарата «Урамин» для лечения и профилактики заболеваний мочевыводящей системы птиц при экспериментально смоделированной подагре и в условиях производства.

Материалы и методы исследований

Для моделирования процесса подагры у кур в условиях эксперимента использовали молодняк (петушки) яйценосной птицы 70–90-дневного возраста, а в качестве препарата-провокатора – диклофенак натрия в таблетках в дозе 5 мг/кг живой массы, разведенный на 1,0%-ном растворе микрокристаллической целлюлозы, применяемый в течение 5 дней. Данная доза и длительность применения позволяют вызвать у птиц стойкое достоверное повышение мочевой кислоты без развития признаков тяжелой интоксикации и падежа.

Для отработки эффективной лечебной дозы четырем подопытным группам птиц продолжили ежедневное введение диклофенака натрия в дозе 5 мг/кг массы тела и одновременно с этим выпаивали препарат «Урамин» в следующих суточных дозах: группа 1 – 0,5 г/кг массы тела; группа 2 – 0,4 г/кг массы тела; группа 3 – 0,3 г/кг массы тела; группа 4 – на фоне интоксикации диклофенаком не получала препарат «Урамин», являлась положительным контролем (K⁺); группа 5 – не подвергалась никаким манипуляциям, являлась отрицательным контролем (K⁻).

Препарат «Урамин» один раз в сутки в различных дозах растворяли в 1 л питьевой воды и свободно выпаивали подопытной птице в течение 2 ч. После поилки наполняли чистой питьевой водой. Препарат применяли шестидневным курсом. По окончании курса лечения у птицы всех групп была отобрана кровь для биохимического исследования.

Согласно утвержденной программе, производственные испытания препарата «Урамин» были проведены в ОАО «Александрйское» Шкловского района. В данном хозяйстве наблюдались регулярные случаи возникновения подагры у кур родительского стада.

Для испытания было представлено 42,0 кг препарата «Урамин». Препарат задавали орально с питьевой водой в птичнике № 6 ОАО «Александрйское» 4120 птицам родительского стада бройлеров кросса Росс-308 (возраст – 288 дней) в дозе 0,4 г/кг живой массы. Средняя живая масса подопытной птицы на начало испытаний составляла 4,45 кг, соответственно, суточная доза была определена как 1,7 г на одну особь. Препарат выпаивали ежедневно в течение 6 дней. До начала испытаний и по окончании от 10 кур опытной и контрольной групп были отобраны образцы крови для проведения биохимических исследований на базе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского».

В качестве базы для сравнения в контрольном птичнике № 7 (5200 голов, возраст – 352 дня) аналогичным способом и курсом применялся препарат гидрокарбонат натрия, принятый в хозяйстве для лечения заболеваний мочевыводящей системы.

Результаты и их обсуждение

Как видно из таблицы, применение препарата «Урамин» при подагре птиц имеет дозозависимый эффект.

Наиболее эффективной оказалась доза 0,4 г/кг массы тела (достоверное снижение мочевой кислоты на 38,7 % по сравнению с положительным контролем). Также эффективной оказалась максимальная доза 0,5 г/кг массы тела (достоверное снижение мочевой кислоты на 24,8 % по сравнению с положительным контролем). При наименьшей дозе 0,3 г/кг массы тела уровень мочевой кислоты имеет тенденцию к снижению на 12,6 %.

**Эффективность препарата «Урамин»
при экспериментально смоделированной подагре птиц**

Показатель	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5
	0,5 г/кг	0,4 г/кг	0,3 г/кг	K ⁺ (диклофенак)	K ⁻ (питьевая вода)
Мочевая кислота, мкмоль/л	150,1 ± 15,1* (–24,8 %)	122,4 ± 21* (–38,7 %)	174,6 ± 35,7 (–12,6 %)	199,7 ± 8,2	155,9 ± 27,9
Общий протеин, г/л	46,1 ± 0,9	44,2 ± 1,7	43,6 ± 2,3	45,9 ± 0,8	44,4 ± 1,3
Креатинин, мкмоль/л	38,5 ± 1,6	34,5 ± 1,2	34,7 ± 3,2	36,4 ± 3,4	34,4 ± 0,9
Глюкоза, ммоль/л	10,1 ± 0,5**	9,4 ± 0,3**	9,7 ± 0,6**	10,6 ± 0,4**	12,8 ± 0,3
Холестерин, ммоль/л	3,8 ± 0,2	3,4 ± 0,4	3,2 ± 0,4	3,6 ± 0,3	3,9 ± 0,1
АСТ, U/l	154,6 ± 12*	133,8 ± 8,5	134,8 ± 13,7	119,6 ± 4,5	134,3 ± 8,6
Ca, ммоль/л	3,4 ± 0,1	3,1 ± 0,2	3,3 ± 0,5	3,6 ± 0,1	3,3 ± 0,2
P, ммоль/л	1,2 ± 0,1	2,3 ± 0,2**	2,2 ± 0,2**	1 ± 0,1	1,2 ± 0,1
Ca:P	2,8	1,4	1,5	3,6	2,8

*Достоверно по отношению к группе 4 (K⁺), $P < 0,05$.

**Достоверно по отношению к группе 5 (K⁻), $P < 0,05$.

Следует отметить пониженный уровень глюкозы во всех группах птиц, получавших диклофенак, а также достоверно повышенное содержание фосфора в крови в группах 2 и 3. В группе 1 (0,5 г Урамина на 1 кг массы тела) соотношение кальция и фосфора было аналогичным, как в группе 5 (отрицательный контроль), что свидетельствует об оптимальном минеральном обмене при использовании данной дозы.

Таким образом, рекомендуемая суточная доза Урамина при подагре сельскохозяйственных птиц составляет 0,4–0,5 г/кг массы тела свободной выпойкой 6–7-дневным курсом, далее – под контролем уровня мочевой кислоты.

При проведении производственных испытаний в течение всего периода наблюдения (10 дней) не было отмечено осложнений, связанных с приемом препаратов в опытном и контрольном птичниках. Начиная с 4-го дня, в опытном птичнике № 6 отмечалось уменьшение количества регистрируемой птицы с клиническими признаками подагры (жидкий помет белого цвета с обилием мочекислых солей, загрязненное оперение в области хвоста). За время наблюдения в опытном птичнике пало 22 птицы (0,53 %), в контрольном – 31 птица (0,6 %). При вскрытии наблюдали признаки висцеральной подагры в опытном птичнике у 10 птиц (48,6 %), в контрольном – у 20 птиц (65,9 %). Анализ рис. 1 показывает, что динамика падежа в опытном и контрольном птичниках в первые дни наблюдения находится примерно на одном уровне, начиная с 5-го дня после начала применения препарата, падеж в опытном птичнике резко снижается, в то время как в контрольном птичнике остается на прежнем уровне.

На рис. 2 показано соотношение птицы, павшей с диагнозом мочекислый диатез (подагра) к общему падежу от незаразных болезней в опытном и контрольном птичниках.

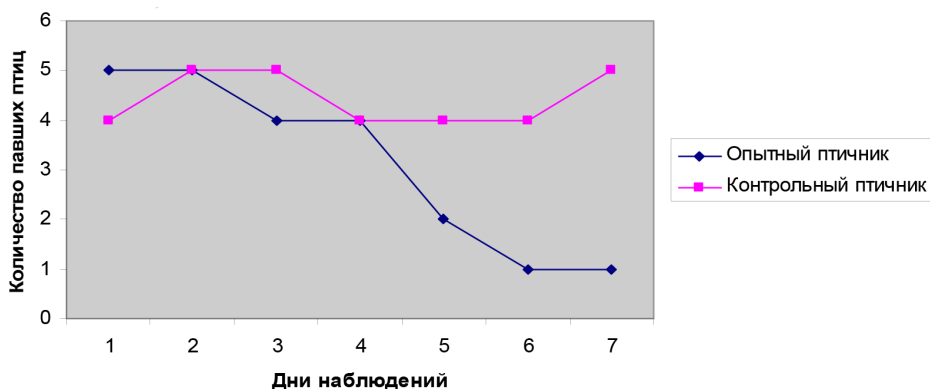


Рис. 1. Динамика падежа в опытном и контрольном птичнике

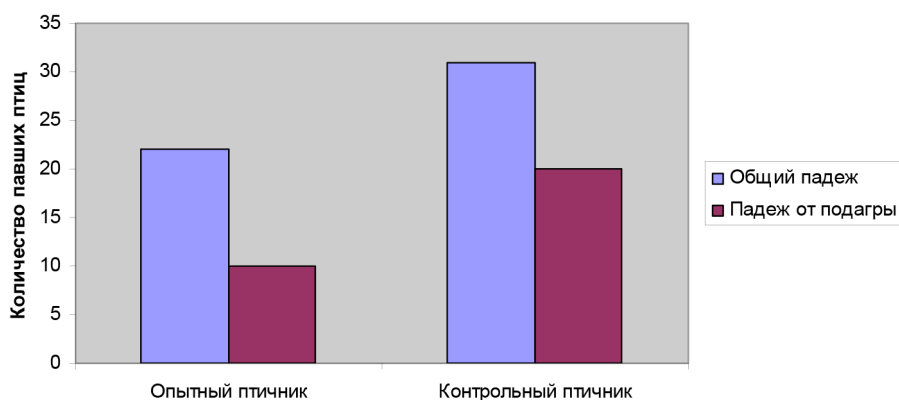


Рис. 2. Соотношение птицы, павшей от подагры, к общему падежу

Применение Урамина вызвало достоверное снижение уровня мочевой кислоты в сыворотке крови птиц опытного птичника (на 26,7 %). В контрольном птичнике отмечена тенденция к снижению уровня мочевой кислоты (на 4,4 %), но различия не достоверны. Также у опытной группы птиц в сыворотке крови достоверно увеличился уровень общего белка и кальция.

Экономическая эффективность (окупаемость) ветеринарных мероприятий при использовании ветеринарного препарата «Урамин» составила 2,55 руб. на 1 рубль затрат.

Заключение

Рекомендуемая суточная доза Урамина при подагре сельскохозяйственных птиц составляет 0,4–0,5 г/кг массы тела свободной выпойкой 6–7-дневным курсом, далее – под контролем уровня мочевой кислоты.

Проведенные производственные испытания показали, что Урамин достоверно снижает уровень мочевой кислоты в сыворотке крови птиц на 26,7 %, а также проявление клинических признаков подагры у живой птицы и патологоанатомических изменений, свойственных для мочекислотного диатеза, у павшей птицы.

Литература

1. Бессарабов, Б. Ф. Иллюстрированный атлас болезней птиц / Б. Ф. Бессарабов, Н. К. Сушкова, С. Ю. Садчиков. – М., 2015. – 164 с.
2. Бессарабов, Б. Ф. Подагра (мочекислый диатез) / Б. Ф. Бессарабов, И. Мельникова // Птицеводство. – 2001. – № 5. – С. 27–29.
3. Бобер, Ю. Н. Значение биохимических исследований крови при диагностике и фармакопрофилактике подагры у кур / Ю. Н. Бобер // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы / Гродн. гос. агр. ун-т. – Гродно. – 2005. – Т. 4, ч. 2. – С. 130–133.
4. Pathology of gout in poultry / C. A. Uma [et al.] // Indian J. Vet. Pathol. – 1999. – Vol. 23. – P. 94–95.
5. Rao, T. B. An outbreak of gout in East Godavari District Andhra pradesh / T. B. Rao, J. H. Das, D. R. Sharma // Poultry Adviser. – 1993. – Vol. 26. – P. 43–45.

Поступила 19.07.2017 г.

УДК 612.638.12.591.13

И. Б. Кыкиш, И. И. Ковальчук, Л. И. Романив

ВЛИЯНИЕ РАЗНЫХ ДОЗ МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ

*Институт биологии животных Национальной академии аграрных наук,
г. Львов, Украина*

Введение

С использованием современных способов содержания и ухода за пчелиными семьями возникает вопрос рационального обеспечения их безопасной кормовой базой. Перспективным направлением в обогащении корма полезных насекомых микроэлементами является использование нанокарбоксилатов биотических металлов, которые повышают биологическую ценность кормовой массы.

Украинским ученым на основе достижений современной нанотехнологии удалось синтезировать сверхчистые нанокарбоксилаты макро- и микроэлементов, которые находят широкое применение в обогащении сырья и продуктов питания для людей [5], а также рационов животных [3]. Доказан широкий спектр биологических эффектов от использования цитратов таких элементов, как Zn, Mg, Co, Ge, Se [1, 2, 4].

Сочетание наночастиц многих элементов в их органическом цитратном комплексе позволило получить высокую эффективность от их применения для профилактики и борьбы с основными болезнями сельскохозяйственных культур. Одним из таких средств является многокомпонентный элементный препарат «Аватар-Защита», который используют против основных возбудителей болезней и подкормки сельскохозяйственных культур в период вегетации. Действующей основой препарата являются цитраты макро- и микроэлементов – Mg, Fe, S, Cu, Zn, Co, Mn Mo, Ni и другие, полученные методом нанотехнологии (М. В. Косинов и В. Г. Каплуненко, 2009). Однако биологическое действие на животных указанного цитратного комплекса, в частности на жизнедеятельность медоносных пчел, не изучено.

В связи с этим возникает вопрос о необходимости исследования биологического действия указанного препарата при выпаивании медоносным пчелам, а также возможности повышения полноценности их минерального питания, где макро- и микроэлементы играют ведущую роль.

Материалы и методы исследований

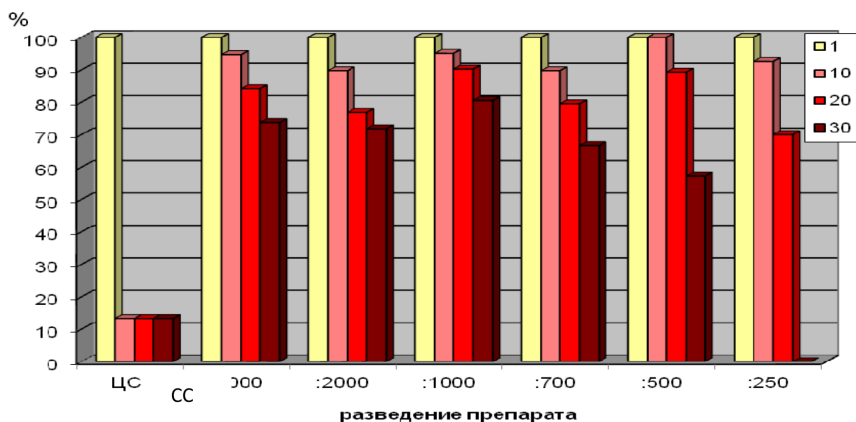
Для проведения исследований из пчелосемей пасеки-вивария Института биологии животных НААН было сформировано семь групп медоносных пчел, которые содержались в садках в условиях термостата при температуре 35 °С, влажности 75,0 %, по 50–60 особей в каждой. Для опыта отбирали рабочих одновозрастных пчел. Взрослых летных пчел отбирали либо с рамок, либо у летка, распознавая по обножке. Отобранных пчел заключали в экспериментальные пластиковые садки. I группа – контрольная, получала 2 мл 50,0 %-ного сахарного сиропа/садок/сут. Пчелам II, III, IV, V, VI и VII опытных групп в аналогичное количество сахарного сиропа дополнительно вводили микроэлементный комплекс серии «Аватар-Защита» (ООО «Научно-производственная компания Аватар») в разведениях (1:3000), (1:2000), (1:1000), (1:700), (1:500), (1:250). В течение 30 сут. ежедневно учитывали количество живых и мертвых пчел, их двигательную активность.

Полученные результаты исследований оценивали с применением статистического анализа и определением средних величин (M) и их отклонений ($\pm m$) с использованием компьютерной программы Microsoft Excel. Степень достоверности межгрупповых различий определяли с использованием коэффициента Стьюдента (p).

Результаты и их обсуждение

В результате проведенного опыта установлено положительное влияние микроэлементного комплекса на жизнеспособность медоносных пчел.

В течение четырех суток потребления добавки существенных изменений в двигательной активности и жизнеспособности медоносных пчел, а также их гибели во всех опытных и контрольной группах не наблюдалось.



Сохранность пчел на фоне скармливания микроэлементного комплекса в разных разведениях в течение 30 сут., %

В течение 10 дней скармливания сиропа отмечалась 90,0–100,0 %-ная выживаемость пчел в опытных группах по сравнению с контролем (см. рисунок). В частности, в условиях разведения (1:1000), (1:2000), (1:700), (1:500), (1:250), (1:3000) количество живых пчел составляло 95,0, 90,0, 90,0, 100,0, 93,0, 95,0 % соответственно по сравнению с 13,0 % в контрольной группе, что свидетельствует о стимулирующем действии микроэлементного комплекса в использованных разведениях на жизнеспособность пчел.

Аналогичное стимулирующее действие на медоносных пчел наблюдали и на 20-е сутки исследования. Однако в группах с разведением 1:1330 и 1:1500 отмечено увеличение количества мертвых пчел до 90,0 % в первые дни скармливания добавки. Самая высокая гибель пчел в группе, потреблявшей комплекс с разведением 1:1500, была зафиксирована на 5-й день, а на 7-й день отмечена их 100 %-ная гибель.

В условиях подкормки микроэлементного комплекса в течение 30 суток лучшие были характерны для групп с разведением 1:500, 1:700, 1:1000, 1:2000, 1:3000, где наблюдали сохраненную двигательную активность пчел и жизнеспособность. Количество живых пчел составляло от 57,0 до 80,0 % по сравнению с 13,0 % в контрольной группе.

Количество мертвых пчел в IV, V, VI, VII опытных группах на 30-е сутки опыта удерживалось приблизительно на одном уровне, однако было меньше, чем в контрольной группе в этот период опыта, что может указывать на стимулирующее действие препарата в использованных количествах на жизнеспособность пчел.

Скармливание пчелам в составе сиропа подкормки микроэлементного комплекса «Аватар-Защита» на протяжении 30 сут., способствовал улучшению их жизнеспособности и указывает на прямую зависимость продолжительности жизни от концентрации этого комплекса в сиропе. Установлено, что в опытных группах, которым скармливали микроэлементный комплекс

в разведениях 1:700, 1:1000, 1:2000, более высокие показатели жизнеспособности и продолжительности жизни пчел, что подтверждается минимальным процентом мертвых пчел – 33,0, 20,0, 28,0 % соответственно по сравнению с контрольной группой, получавшей в ходе исследования только сахарный сироп.

Заключение

Полученные результаты и их анализ подтверждают безопасность применения комплексного микроэлементного препарата «Аватар-Защита» для медоносных пчел, поскольку в рабочих разведениях, используемых для защиты растений, этот препарат оказывает стимулирующее влияние на жизнеспособность пчел и указывает на прямую зависимость продолжительности жизни от концентрации этих элементов в сиропе.

Литература

1. Вплив цитратів германію та селену на вміст ліпідів і важких металів в організмі медоносних бджіл / Р. С. Федорук [та інш.] // Біологія тварин. – 2014. – Т. 16, № 2. – С. 141–149.
2. Самотин, В. Профилактика нарушения обмена микроэлементов у животных / В. Самотин. – М. : Колос, 1981. – 143 с.
3. Спосіб отримання карбоксилатів металів «Нанотехнологія отримання карбоксилатів металів»: пат. на корисну модель 38391 Україна, МПК (2006) / М. В. Косінов, В. Г. Каплуненко ; опубл. 12.01.2009. – Бюл. № 1.
4. Федорук, Р. С. Фізіологічна залежність вмісту важких металів у тканинах бджіл з різних агроекологічних умов карпатського регіону та дії наноцитратів хрому, селену, германію / Р. С. Федорук, І. І. Ковальчук // Фізіолог. журн. – 2014. – Т. 60, № 3. – С. 239.
5. Шагун, Л. А. Минеральные подкормки и физиологическое состояние пчел / Л. А. Шагун // Пчеловодство. – 1982. – № 8. – С. 15–16.

Поступила 05.07.2017 г.

УДК 638.12:612.292:57.014:664.48

А. Г. Пащенко, И. И. Ковальчук

СИНЕРГИЧЕСКОЕ И АНТАГОНИСТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ЦИТРАТОВ КОБАЛЬТА И НИКЕЛЯ НА СОДЕРЖАНИЕ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ТКАНЯХ ОРГАНИЗМА ПЧЕЛ

*Институт биологии животных Национальной академии аграрных наук,
г. Львов, Украина*

Введение

Технологии интенсивного развития пчеловодства требуют оптимального обеспечения пчелосемей весной не только углеводными и белковыми кормами, но и макро- и микроэлементами, которые стимулируют обменные процессы организма пчел. По мнению многих авторов, потребность пчел в отдельных компонентах кормов гораздо разнообразнее, чем для других живых существ.

Установлены лишь некоторые закономерности влияния вида и количества корма на состояние, общее развитие и продуктивность пчелиной семьи [1]. Известно, что общая потребность в корме пчелиной семьи связана с содержанием в нем питательных и биологически активных веществ. Установление потребности пчел в белковом корме, витаминах, макро- и микроэлементах важно с точки зрения влияния их на физиологические процессы в организме, а с другой – на развитие, силу и производительность семьи [2]. Потребление пчелами минеральных элементов с пыльцой растений и водой, как и содержание их в нектаре, предопределяют уровень трансформации этих веществ в организм медоносных пчел.

В проведенных опытах [3] установлено, что скармливание пчелам в весенний период подкормок, обогащенных цитратами кобальта и никеля, стимулирует репродуктивную функцию пчеломаток и достоверно изменяет минеральный состав организма пчел и их продукции. В сложном процессе обмена веществ минеральные элементы находятся в тесной связи и взаимодействии не только между собой, но и с органическими компонентами. Многие функции минеральные элементы выполняют парами или группами, оказывая одинаковое или усиленное влияние на органы, системы и целый организм, а также физиологические процессы в нем. Иногда отдельные элементы заменяют один другой при образовании органоминеральных соединений, что часто проявляется в ряде ферментов.

Изучение физиолого-биохимического влияния взаимодействия микроэлементов на биосистему пчелиной семьи при применении минеральных добавок позволит найти оптимальные и безопасные методы стимулирования продуктивности пчел.

Материалы и методы исследований

Первый опыт был проведен в фермерском хозяйстве «Карпатская пчела» Перемышленского района Львовской области с 8 апреля по 8 мая 2014 г. Для проведения опыта было сформировано пять групп пчелиных семей, по три семьи пчел в каждой: I группа (контрольная) – условия стационарного содержания; II группа – при аналогичных условиях с подкормкой сахарным сиропом (60,0 %, 500 мл/неделю) и мукой натуральной сои (500 г/неделю) на пчелосемью; III группа – при аналогичных условиях с подкормкой сахарным сиропом (60,0 %, 500 мл/неделю) и мукой натуральной сои (500 г/неделю) на пчелосемью с добавлением в данное количество корма 2 мг цитрата Со; IV группа – при аналогичных условиях с подкормкой сахарным сиропом (60,0 %, 500 мл/неделю) и мукой натуральной сои (500 г/неделю) на пчелосемью с добавлением в данное количество корма 1 мг цитрата Ni; V группа – при аналогичных условиях с подкормкой сахарным сиропом (60,0 %, 500 мл/неделю) и мукой натуральной сои (500 г/неделю) на пчелосемью с добавлением в данное количество корма 2 мг цитрата Со и 1 мг цитрата Ni. Подкормку опытных групп пчелосемей проводили в течение месяца.

Второй опыт был проведен в тех же агроэкологических условиях в весенний период 2015 г. Для проведения исследования на пасеке также было сформировано пять групп пчелиных семей, по три пчелосемьи в каждой: I группа – контрольная – условия стационарного содержания с подкормкой сахарным сиропом 0,3 л/неделю/семью; II группа – при аналогичных условиях с подкормкой сахарным сиропом 0,3 л/неделю/семью с добавлением в данное количество корма 2 мг цитрата Ni; III группа – при аналогичных условиях с подкормкой сахарным сиропом 0,3 л/неделю/семью с добавлением в данное количество корма 2 мг цитрата Co; IV группа – при аналогичных условиях с подкормкой сахарным сиропом 0,3 л/неделю/семью с добавлением в данное количество корма 1 мг цитрата Ni; V группа – при аналогичных условиях с подкормкой сахарным сиропом 0,3 л/неделю/семью с добавлением в данное количество корма 2 мг цитрата Co и 1 мг цитрата Ni. Подкормку опытных групп пчелосемей проводили в течение месяца.

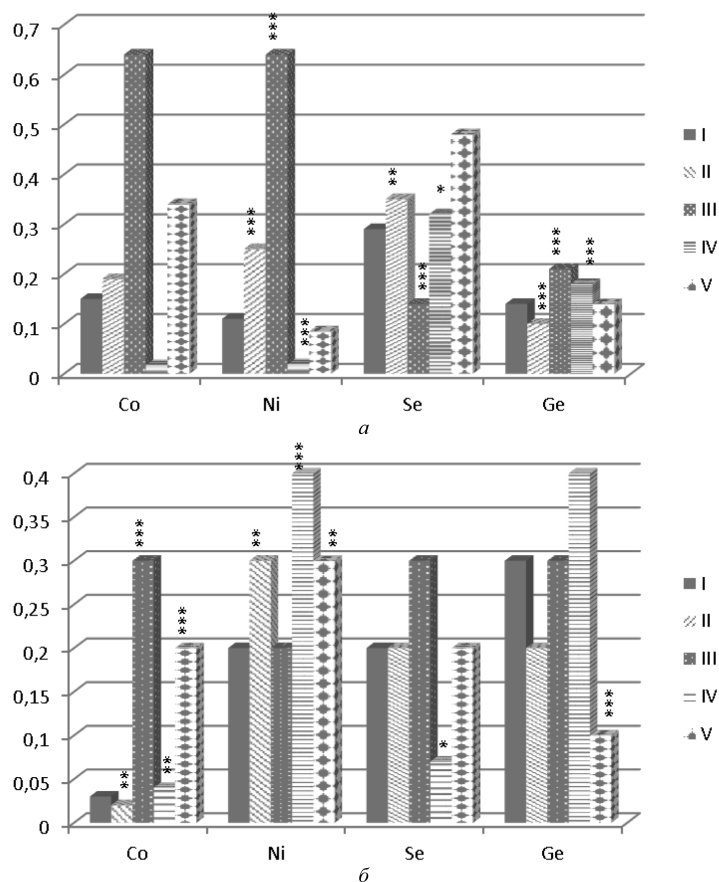
Для лабораторного исследования в весенний период после завершения подкормки были отобраны образцы организмов пчел (20–30 с каждой семьи 1-го и 2-го опыта). Отобранных для опытов рабочих медоносных пчел содержали в ульях-лежаках, пчелосемьи были благополучные по инфекционным и инвазионным заболеваниям.

В образцах биологического материала было определено содержание Co, Ni, Se и Ge методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) на приборе Optima 210 DV. Микроэлементы Co и Ni вносили в подкормку в форме органических солей – цитратов, которые производят на предприятии ООО «Наноматериалы и нанотехнологии» (г. Киев) и изготавливают методом электроимпульсной абляции с последующим карбоксилированием коллоидов (М. В. Косинов, В. Г. Каплуненко) [4].

Полученные данные обработаны статистически с определением средних величин (M), их отклонений ($\pm m$) и степени достоверности (p) по коэффициенту Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Полученные данные микроэлементного состава организма пчел подтверждают, что содержание отдельных минеральных элементов в тканях медоносных пчел значительно колеблется. Это может определяться их уровнем в пыльце медоносных растений, воде и физиологическим значением отдельных минеральных элементов для организма. Известно, что медоносные пчелы способны накапливать Zn и Fe в тканях организма в высоких концентрациях, тогда как другие элементы (Cu, Ni, Cd, Pb) – в значительно меньших количествах независимо от экологических условий содержания пчел. Анализ данных указывает на существенные межгрупповые различия содержания макро- и микроэлементов в тканях пчел в период весенней подкормки цитратами Co и Ni 1-го опыта (см. рисунок, а).



Содержание отдельных минеральных элементов в тканях организма пчел, мг/кг массы: *a* – 1-й опыт; *б* – 2-й опыт. Достоверные различия в содержании минеральных элементов в тканях организма медоносных пчел II, III, IV, V опытных групп по сравнению с I (контрольной) группой: * $P < 0,05$ – $0,02$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

Добавление в сироп 1 мг Ni и сои сохраняло высокое содержание этого элемента во II ($p < 0,001$) и III ($p < 0,001$) опытных группах, на фоне низкого содержания в тканях целого организма медоносных пчел IV ($p < 0,001$) и V групп по сравнению с контролем. Совместное внесение 1 мг Ni и 2 мг Co в виде цитрата и сои вызвало повышение содержания Co и Se в тканях медоносных пчел V группы, однако разница была недостоверна. Внесение к сахарному сиропу 2 мг Co и сои характеризовалось более высоким, чем в контроле, содержанием Ge ($p < 0,001$) и низким – Se ($p < 0,001$) в тканях пчел III группы. Следует отметить, что как раздельное, так и совместное добавление Ni и Co к сахарному сиропу медоносным пчелам приводило к неодинаковым изменениям содержания исследуемых элементов в тканях пчел всех четырех опытных групп по сравнению с контрольной. Полученные результаты указывают на выраженное синергическое действие цитрата Ni на содержание Se во II группе и Ge –

в III группе, а цитрат Со предопределял синергическое влияние только на повышенное содержание Ni в II–IV группах и Ge – III группе, антагонистическое влияние на повышенное содержание Se в III группе, что необходимо учитывать в схемах минеральной подкормки пчел в весенний период.

Как известно, Se необходим для повышения иммунитета, нормализации гормонального фона, для выведения из организма тяжелых металлов, однако содержание его в почве и растениях большинства регионов является низким. Se входит в состав функциональных белков, в частности ферментов, участвующих в предупреждении окисления мембран клеток, жиров, белков, ДНК, РНК. Что касается Ge, то он обладает широким спектром биологического действия, предотвращает старение и гибель клеток организма. Этот элемент играет важную роль в формировании резистентности в организме и способен восстанавливать и профилактировать большой спектр заболеваний. Ni принимает участие в активации ферментов, кроветворении и формировании носителей генной информации, продлевает и усиливает действие инсулина, оказывает благотворное влияние на деятельность почек и гипофиза, а также клеточных мембран и нуклеиновых кислот в сохранении их структуры [5].

Синергическое и антагонистическое влияние вышеупомянутых элементов на содержание Со, Ni, Se и Ge в тканях организма пчел наблюдалось (2-й опыт) и при их использовании в подкормке для медоносных пчел без муки сои (см. рисунок, б). Однако достоверные различия отмечены только для пчел опытных групп по Со ($p < 0,01$ – $0,001$) и Ni, кроме III группы ($p < 0,01$ – $0,001$) относительно контроля, а также Se – в IV группе ($p < 0,05$) и Ge – в V группе ($p < 0,001$). Существенных различий других опытных групп по концентрации Se и Ge в тканях организма медоносных пчел не установлено.

Заключение

Проведенные исследования показали, что как отдельное, так и совместное добавление цитратов Ni и Со с мукой сои медоносным пчелам в весенний период приводило к равнонаправленным изменениям содержания Со, Ni, Se, Ge в тканях пчел всех четырех опытных групп. Эти взаимосвязи между минеральными элементами необходимо учитывать в схемах минеральной подкормки пчел в весенний период. В связи с этим активизация физиологических возможностей медоносных пчел путем скармливания органических соединений микроэлементов является перспективным направлением повышения жизнеспособности и продуктивности пчелиных семей.

Литература

1. Мінеральне живлення тварин / за ред. Г. Т. Кліценка, М. Ф. Кулика, М. В. Косенка, В. Т. Лісовенка. – Київ : «Світ», 2001. – С. 198–199.
2. Ковальчук, И. И. Содержание тяжелых металлов в организме пчел и их продукции с разных экологических зон Прикарпатья / И. И. Ковальчук // Пчеловодство. – 2012. – № 2. – С. 6–7.

3. Интенсивность откладывания яиц пчелиными матками в весенний период при скармливании их семьям цитратов Со и Ni с сахарным сиропом / Р. С. Федорук [и др.] // Zootechnical science – an important factor for the european type of the agriculture : collection of works of Scientific symposium with international anticipation scientific and practical Institute of biotechnologies in animal husbandry and veterinary medicine, Maximovca, Moldova, 29 sept.–01 oct. 2016. – Moldova, 2016. – P. 774.

4. Спосіб отримання карбоксилатів харчових кислот з використанням нанотехнології : пат. України на корисну модель № 39392, МПК (2009): C07C 51/41, C07F 5/00, C07F 15/00, B82B 3/00 / М. В. Косінов, В. Г. Каплуненко ; опубл. 25.02.2009. – Бюл. № 4/2009.

5. Белецкий, Е. М. Польза и вред для живых организмов / Е. М. Белецкий, Р. А. Кулибаба, К. П. Владыкин // Вісн. ЦНЗ АПВ Харківської області. – 2012. – Вип. 12. – С. 263–283.

Поступила 05.07.2017 г.

УДК 619:616.638.243.612.3.577

Л. П. Кременяк, В. Ф. Абрамова

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ГИБРИДА КРАСНОГО КАЛИФОРНИЙСКОГО ЧЕРВЯ НА ФАКТОРЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОРГАНИЗМА КРОЛИКОВ

*Научно-практический институт биотехнологий в зоотехнии
и ветеринарной медицине, с. Максимовка, р-н Анений Ной, Новоаненский р-н, Молдова*

Введение

О свойствах некоторых биологических жидкостей живых организмов и их клинко-физиологическом статусе известно давно. Ряд насекомых выделяют феромоны тревоги (секрет), используемые для защиты жизнедеятельности как животных, так и растений. Литературные данные о феромоне тревоги, выделяемом дождевыми червями, весьма скудные. В печатных изданиях существует большое количество сообщений о получении препаратов, в том числе и лечебных, из тканей различных дождевых червей, включая красного калифорнийского червя [1, 4]. В опытах установлено, что под влиянием автолизата лечение конъюнктивита, ирита и перифокальной опухоли завершалось почти в 3,0 раза быстрее, чем у животных, не подвергавшихся лечению [3].

Также при помощи научных исследований было подтверждено, что биологически активные вещества (белки, ферменты, аминокислоты, жирные кислоты, липиды и т. д.) дождевого червя оказывают положительное влияние на организм животных и человека. Б. М. Анохин представляет результаты исследований веществ, полученных из биомассы дождевых червей, используемые при лечении ожогов, вызванных химическими веществами [2].

Цель исследования – определить биологически активные свойства феромона тревоги (секрета) и автолизата, полученного из тканей гибрида красного калифорнийского червя, для того чтобы использовать его в области ветеринарной медицины.

Материалы и методы исследований

Объектом исследования являлись гибрид красного калифорнийского червя и кролики, а материалом – феромон тревоги и аутолизат, полученные из ткани гибрида красного калифорнийского червя.

Для выполнения исследований был организован опыт на кроликах в ОПХ Научно-практического института биотехнологий в зоотехнии и ветеринарной медицины. В опыт были включены 27 кроликов-аналогов – три группы по 9 животных. Каждую группу разделили на три подгруппы.

Изучение влияния биологически активных веществ гибрида красного калифорнийского червя на некоторые факторы резистентности организма проводили на кроликах согласно схеме опыта (см. таблицу).

Схема опыта

Номер группы	Количество кроликов, голов	Номер подгруппы	Количество кроликов, голов	Условия опыта	Проводимые исследования
I	9	I	3	Феромон тревоги, подкожно, доза 1,0 мл/голову в течение 5 дней	Бактерицидная активность, фагоцитарная активность, лизоцимная активность, количество лейкоцитов, выведение лейкоцитарной формулы
		II	3	Феромон тревоги, до вакцинации, подкожно, доза 1,0 мл/голову, однократно	
		III	3	Феромон тревоги, подкожно, доза 1,0 мл/голову, двукратно с интервалом 7 дней	
II	9	I	3	Аутолизат, подкожно, доза 1,0 мл/голову в течение 5 дней	
		II	3	Аутолизат, до вакцинации, подкожно, доза 1,0 мл/голову, однократно	
		III	3	Аутолизат, подкожно, доза 1,0 мл/голову, двукратно с интервалом 7 дней	
III	9	I	3	Физиологический раствор, подкожно, доза 1,0 мл/голову в течение 5 дней	
		II	3	Физиологический раствор, до вакцинации, подкожно, доза 1,0 мл/голову, однократно	
		III	3	Физиологический раствор, подкожно, доза 1,0 мл/голову, двукратно с интервалом 7 дней	

В начале опыта и на 7-й, 16-й, 23-й, 35-й дни после введения биологически активных веществ определяли бактерицидную активность сыворотки крови по Е. Ф. Чернушенко и Л. С. Когосовой, фагоцитарную активность лейкоцитов крови по методу – Е. А. Кост и М. И. Стенко, лизоцимную активность –

методом В. Г. Дорофейчука, количество лейкоцитов определяли по методике подсчета их в сетке Горяева, выведение лейкоцитарной формулы – методом окраски мазков по Романовскому–Гимзе и по методике подсчета клеток под микроскопом. Биометрическую обработку проводили по Е. К. Меркурьевой.

Феромон тревоги получали методом электростимуляции, автолизат биомассы червей – методом автолиза гомогената биомассы червей (с добавлением 5,0 % толуола) в условиях термостата ($t^{\circ} = 37^{\circ}\text{C}$) в течение 3–5 ч.

Феромон тревоги и автолизат стерилизовали методом пропускания их через фильтр Зейтца с последующим посевом на мясо-пептоном бульоне (МПБ) и мясо-пептоном агаре (МПА) и контролем роста микрофлоры.

Биологически активные вещества (феромон тревоги и автолизат) вводили кроликам подкожно в дозе 1,0 мл/голову согласно схеме опыта.

Результаты и их обсуждение

Результаты определения бактерицидной активности сыворотки крови кроликов свидетельствуют о том, что в исследуемых пробах крови I группы, где животным вводили феромон тревоги, 5 дней подряд, на 7-й день после начала введения отмечалось достоверное снижение бактерицидной активности с $53,4 \pm 5,3$ до $21,4 \pm 4,1$ % и резкий подъем активности на 16-й день – до $90,5 \pm 9,5$ %, с последующим ее снижением.

Однократное введение феромона тревоги кроликам II подгруппы I группы способствовало повышению бактерицидной активности на 16-й день с $64,0 \pm 3,1$ до $78,6 \pm 7,1$ %, а на 35-й день – до $83,3 \pm 25,6$ % (не достоверно).

Двукратное введение феромона тревоги кроликам III подгруппы I группы с интервалом 7 дней повлекло резкое снижение бактерицидной активности на 7-й день с $53,4 \pm 3,1$ до $19,5 \pm 4,8$ %, оставаясь в дальнейшем ниже исходных данных.

Таким образом, наилучший эффект получен в результате однократного введения феромона тревоги.

Во II группе I подгруппы, где кроликам вводили автолизат, установлено, что бактерицидная активность сыворотки крови в результате пятидневного введения остается на одинаковом уровне и только на 23-й день резко снижается (достоверно) с $64,0 \pm 6,3$ до $10,9 \pm 0,0$ %, а на 35-й день – до $41,7 \pm 25,0$ % (не достоверно). При однократном введении автолизата бактерицидная активность остается почти на уровне исходных данных и только на 23-й день отмечается ее достоверное снижение до $18,2 \pm 0,0$ %. К концу опыта бактерицидная активность в данной подгруппе достигает $87,5 \pm 45,8$ %, что в 2,0 раза выше, чем в I подгруппе.

Двукратное введение автолизата способствовало увеличению бактерицидной активности на 16-й день после начала введения с $56,0 \pm 2,7$ до $85,7 \pm 14,3$ % (не достоверно). На 23-й день бактерицидная активность резко снижается

(достоверно) до $10,0 \pm 0,9 \%$ и остается на низком уровне – $25,0 \pm 0,0\%$ (достоверно) – до 35-го дня.

Таким образом, однократное введение автолизата наиболее благоприятно влияет на бактерицидную активность сыворотки крови, которая является одним из факторов неспецифической резистентности организма.

Что же касается лизоцимной активности, то следует отметить, что по сравнению с исходными данными во всех группах и подгруппах она снижается и к концу опыта наибольшая активность отмечается у кроликов, где проводилось однократное введение феромона тревоги ($1,90 \pm 0,30$ до $0,83 \pm 0,25$ мкг/мл) и автолизата ($1,30 \pm 0,10$ до $0,50 \pm 0,25$ мкг/мл).

Фагоцитарную активность определяли с использованием культуры *Staphylococcus* (№ 209). Отмечено, что в I группе, не зависимо от схем применения феромона тревоги, наблюдалось увеличение фагоцитарной активности при незначительных изменениях фагоцитарной интенсивности лейкоцитов. Так, на 23-й день фагоцитарная интенсивность увеличилась с $1,4 \pm 0,0$ до $2,2 \pm 0,8$ единиц (достоверно) при однократном введении феромона тревоги.

Во II группе, в которой животным вводили автолизат, во всех трех подгруппах на 7-й и 16-й день отмечалась стимуляция фагоцитарной активности с незначительными изменениями фагоцитарной интенсивности. Максимальный уровень достигал $2,2 \pm 0,5$ единиц – на 16-й день и $2,0 \pm 0,6$ единиц – на 23-й день при однократном введении.

Количество лейкоцитов у кроликов I группы I подгруппы находилось в пределах физиологической нормы и по сравнению с исходными данными их количество увеличилось, достигая к 35-му дню $9,7 \pm 1,7$ тыс/мл. Двукратное введение феромона тревоги также стимулировало прирост количества лейкоцитов с $3,8 \pm 0,37$ до $7,9 \pm 0,24$ тыс/мл (достоверно) на 35-й день. При однократном введении отмечалось некоторое снижение количества лейкоцитов в крови кроликов всех трех подгрупп II группы.

В ходе исследований были выявлены изменения и в лейкограмме крови. Являясь клеточным фактором неспецифической резистентности, соотношение форменных элементов под влиянием феромона тревоги и автолизата подверглось определенным изменениям. Отмечалось увеличение количества нейтрофилов со сдвигом ядра вправо на 7-й и 16-й день, а также снижение количества эозинофилов. У кроликов в I группе наблюдалось снижение базофилов. В этот же период отмечалось снижение количества лимфоцитов при увеличении общего количества лейкоцитов, а к 23-му дню их количество восстанавливалось до исходных данных. Поскольку нейтрофилы являются фагоцитами, увеличение их количества соответствует увеличению фагоцитарной активности на 7-й и 16-й день.

Таким образом, как феромон тревоги, так и автолизат, независимо от схемы применения, проявили положительный эффект стимуляции клеточных факторов неспецифической защиты организма кроликов.

Выводы

1. Феромон тревоги и автолизат биомассы гибрида красного калифорнийского червя, применяемые подкожно в дозе 1,0 мл/голову, при однократном введении способствовали повышению бактерицидной активности сыворотки крови.
2. При применении феромона тревоги и автолизата в указанной выше дозе и схеме фагоцитарная активность, а также фагоцитарная интенсивность лейкоцитов увеличивается.
3. Применение феромона тревоги и автолизата способствовали изменению лейкограммы крови в сторону увеличения нейтрофилов и снижения лимфоцитов при увеличении общего количества лейкоцитов, не выходящего за пределы физиологического статуса.

Литература

1. Абрамова, В. Ф. Биологические активные свойства секрета гибрида красного калифорнийского червя / В. Ф. Абрамова, Л. П. Кременяк // Биоконверсия органических отходов и охрана окружающей среды : материалы IV Междунар. конгр. – Киев, 1996. – С. 82–83.
2. Анохин, Б. А. Предварительные результаты клинического применения экстракта из тканей дождевого червя *Eisenia foetida* / Б. А. Анохин, И. Н. Титов // Биоконверсия органических отходов и охрана окружающей среды : материалы IV Междунар. конгр. – Киев, 1996. – С. 93–94.
3. Бабенко, Г. А. Терапевтический эффект и динамика клинко-биохимических показателей при лечении ожогов глаза афлегмином / Г. А. Бабенко, М. И. Сенюк, Н. И. Шкромиды // Биоконверсия органических отходов и охрана окружающей среды : материалы IV Междунар. конгр. – Киев, 1996. – С. 79–82.
4. Опыт использования биомассы червей / Г. А. Жариков [и др.] // Биоконверсия органических отходов и охрана окружающей среды : материалы Междунар. симп. – Киев, 1994. – С. 72–73.

Поступила 30.06.2017 г.

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
В СОВРЕМЕННОМ ЖИВОТНОВОДСТВЕ**

УДК 619:636.03:618.19-002:612.1

М. Н. Исакова, М. В. Ряпосова, И. А. Шкуратова

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ
ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ
ПРИ ВОСПАЛЕНИИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

*ФГБНУ «Уральский научно-исследовательский ветеринарный институт»,
г. Екатеринбург, Свердловская обл., Россия*

Введение

Повышенную восприимчивость к инфекционным агентам, которые могут вызывать заболевания молочных коров, часто связывают с нарушениями иммунной системы [1, 4]. Так, в этиологии и патогенезе мастита важное место принадлежит взаимодействию микробного фактора с механизмами иммунной защиты молочной железы и общей иммунобиологической реактивностью организма, что, в свою очередь, определяет особенности проявления и течения заболевания [5]. Исследованиями, проведенными рядом авторов, установлено, что мастит у животных сопровождается существенными изменениями иммунных параметров как всего организма в целом, так и факторов локальной защиты молочной железы, при этом иммуносупрессия усугубляется частым и бесконтрольным лечением. Также известно, что иммунная система представляет собой первую линию обороны на начальной стадии инфекции [4] и является ключевым фактором, определяющим исход мастита. При иммунологической диагностике мастита имеют значение только индивидуальные изменения уровней иммуноглобулинов в секрете пораженной доли(-ей) по отношению к нормальным, и лишь ориентировочное – по сравнению с показателями у других животных.

В современной литературе имеются данные, что на ранней стадии патологического процесса при субклиническом мастите иммунный ответ осуществляется за счет увеличения продукции IgA. В молоке пораженных долей, по сравнению с нормальным, уровень IgA повышается на 194,1 %. Увеличение концентрации сывороточной формы IgA на 30,0 % и IgM – на 40,4 % при незначительном повышении – IgG (на 12,4 %), свидетельствует преимущественно

о местном их образовании. Показатели гуморального иммунитета у больных маститом коров в большей степени изменяются к концу лактации и в сухостое. В крови снижается содержание альбуминов на 5,4 и 14,6 %, увеличивается образование крупных циркулирующих иммунных комплексов на 43,2 и 39,1 % соответственно [2, 7].

Имеются данные, что возникновение патологии в молочной железе связано с отклонениями в иммунном статусе, характеризующемся в первую очередь угнетением Т-хелперного звена иммунитета и фагоцитоза, а также активацией В-клеточного и гуморального звеньев иммунной системы организма. Выраженность формы заболевания находится в прямой зависимости от выраженности иммунодефицита. Угнетение Т-хелперного звена иммунитета приводит к активации естественных киллерных клеток, увеличению числа клеток, готовых к апоптозу. Другим исследованием доказано, что при мастите возникает увеличение Т-супрессоров, повышение концентрации лизоцима и циркулирующих иммунных комплексов [5].

Также выявлено, что у животных с маститом при относительно высоком уровне неспецифической резистентности развиваются признаки вторичного иммунодефицита, которые обусловлены и проявляются снижением общего количества Т-клеток в периферической крови, а также изменением соотношения их субпопуляций. Снижение Т-хелперных и Т-супрессорных клеток происходит при длительном воздействии малых доз и слабой активности антигена, недостаточно активном формировании гуморального иммунитета. Следствием этого является замедление процесса созревания В-клеток и синтеза специфических антител. Снижение уровня Т-активных клеток обуславливает уменьшение эффекторной функции лимфоцитов и приводит к более тяжелому течению воспалительного процесса, что наблюдается у животных с гнойной формой мастита [1, 5].

Проведенные исследования S. L. Aitken, C. M. Corl, L. M. Sordillo показали, что при воспалении молочной железы снижены показатели субпопуляций Т-клеточного звена иммунитета, наблюдаются высокие титры интерферона (ИФН) в сыворотке крови на фоне снижения альфа- и гамма-ИФН-продуцирующей способности лейкоцитов, что может свидетельствовать о нарушениях иммунного ответа при данном заболевании. При развитии в тканях молочной железы пролиферативного процесса наблюдается снижение иммуноглобулинов классов G и M, иммунодефицит по Т-клеточному и фагоцитарному звеньям [6].

Гематологические параметры у коров с проявлением субклинического мастита в начале лактации также подвержены существенным изменениям: при субклиническом мастите слабовыраженный и средний лейкоцитоз наблюдался у 29,5 %, высокий – у 51,5 % животных. Лейкоцитарный профиль крови коров при воспалении вымени претерпевает существенные отклонения. Количество лимфоцитов увеличивается при субклиническом мастите в 1,8 раза. Содержание моноцитов возрастает в 2,8 раза соответственно. Исследования D. Nute и др. указывают на то, что решающую роль в отношении первона-

чального иммунного ответа на бактериальные инфекции играют моноциты [7]. По данным других исследований, у больных маститом коров по сравнению со здоровыми в крови содержится меньше эритроцитов на 3,2–13,8 %, достоверно ниже уровень гемоглобина в периоды перестройки функции молочной железы в начале и конце лактации на 8,6 и на 7,2 %, и больше лейкоцитов, особенно в начале и середине лактации, – на 14,5 и на 27,0 % соответственно [6].

Цель работы – провести сравнительный анализ иммуногематологических изменений в организме коров при воспалении молочной железы на основе полученных результатов и имеющихся данных в отечественной и зарубежной литературе.

Материалы и методы исследований

Работа выполнена в лаборатории патологии органов размножения и болезней молодняка ФГБНУ «Уральский научно-исследовательский ветеринарный институт» в рамках государственного задания ФАНО России по теме 0773-2014-0014 «Разработать научно обоснованную программу защиты репродуктивного здоровья сельскохозяйственных животных».

Экспериментальные исследования проведены на базе сельскохозяйственных организаций Свердловской области (племенные заводы, племенные репродукторы). В процессе работы нами были исследованы иммуногематологические показатели у 60 коров, которые были разделены на три группы: здоровые, больные субклиническим маститом, больные клиническим маститом. Кровь для гематологических и иммунологических исследований отбирали из хвостовой вены в вакуумные пробирки со стабилизатором EDTA (Green Vac-Tube, Италия). При подсчете клеток крови (эритроцитов, лейкоцитов) и измерении гемоглобина использовали автоматический ветеринарный гематологический анализатор Abacus junior vet (Diatron, Австрия). Лейкоцитарную формулу подсчитывали путем соотношения клеток в мазках крови. Содержание Т-лимфоцитов определяли в реакции спонтанного розеткообразования с эритроцитами барана, В-лимфоцитов – методом спонтанного розеткообразования с эритроцитами мыши в модификации П. Н. Смирнова с соавт. Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли методом опсоно-фагоцитарной реакции со *Staphylococcus aureus* штамм 209 [3]. Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови определяли методом ПЭГ – преципитации на спектрофотометре UV-1800, производитель – SHIMADZU (Япония).

Результаты и их обсуждение

Проведенные нами исследования показали, что у здоровых и больных субклиническим маститом коров в период исследования содержание эритроцитов находилось на уровне нормативных значений и составило $6,3 \pm 0,2 \cdot 10^{12}/л$, $6,7 \pm 0,8 \cdot 10^{12}/л$ соответственно. У коров, больных клиническим маститом, средний показатель эритроцитов находился в пределах нижней границы нормы

и составил $5,91 \pm 0,4 \cdot 10^{12}/л$. Уровень гемоглобина всех групп животных находился в диапазоне от 91,5 до 115,4 г/л и в среднем составлял $92,8 \pm 1,8$ г/л у животных с признаками мастита и $105,7 \pm 12,5$ г/л у здоровых животных. Средний уровень лейкоцитов у животных с субклиническим маститом составил $7,4 \pm 0,5 \cdot 10^9/л$, что на 12,2 % больше чем у здоровых коров. У коров с клинически выраженным маститом количество лейкоцитов было приближено к верхней границе нормы $9,7 \pm 0,9 \cdot 10^9/л$, что на 32,9 % больше, чем у здоровых животных и на 23,7 % больше, чем у коров с субклиническим маститом. Абсолютное количество лимфоцитов находилось в пределах нормативных значений, так, у здоровых коров оно в среднем составило $5,6 \pm 0,2 \cdot 10^9/л$, у коров с субклиническим и клиническим маститом – $3,1 \pm 0,4 \cdot 10^9/л$ и $4,3 \pm 0,7 \cdot 10^9/л$ соответственно. Указанные данные свидетельствуют о ярко выраженной напряженности системы естественной защиты организма коров, у которых наблюдается патологический процесс в области молочной железы. У отдельных животных с клиническим и субклиническим маститом при оценке лейкоцитарной формулы установлено повышение палочкоядерных нейтрофилов до $5,9 \pm 0,9$ % и $6,1 \pm 1,2$ % соответственно, в то время как у клинически здоровых животных этот показатель находился в диапазоне нормативных значений и в среднем составлял $4,5 \pm 0,8$ %. Это свидетельствует о наличии воспалительного процесса в организме. Количество эозинофилов при субклиническом мастите достигло $6,2 \pm 0,9$ %, а при клиническом – $6,4 \pm 1,1$ %, что отражает понижение сопротивляемости организма к воздействию факторов внутренней и внешней среды. Остальные показатели лейкоцитарной формулы у животных всех групп находились в пределах физиологической нормы.

Нами установлено, что у коров с клиническим маститом отмечено снижение лимфоцитов до $38,3 \pm 1,7$ %, вследствие усиления миграции клеток в пораженные доли молочной железы и в отсутствие своевременного лечения, а у коров с субклиническим маститом – $52,1 \pm 0,5$ %, в то время как у здоровых коров – в среднем $63,3 \pm 1,2$ %.

Наиболее значимые изменения нами выявлены в иммунологических показателях крови коров. Содержание относительного количества Т-лимфоцитов у клинически здоровых животных составило $51,3 \pm 2,1$ %, тогда как у животных с субклиническим маститом оно было ниже на 27,3 % и составило $37,3 \pm 1,8$ %, при клиническом проявлении мастита количество Т-лимфоцитов составило $34,2 \pm 2,1$ %, что на 33,3 % ниже, чем у здоровых животных и на 8,3 % ниже, чем при субклиническом течении мастита. Абсолютное количество Т-лимфоцитов здоровых и больных субклиническим, клиническим маститом животных составило $2,2 \pm 0,4 \cdot 10^9/л$, $4,6 \pm 0,5 \cdot 10^9/л$, $5,1 \pm 0,7 \cdot 10^9/л$ соответственно.

Содержание В-лимфоцитов во всех группах находилось в пределах нормативных значений, и среднее количество у здоровых и больных маститом коров (субклиническим и клиническим) составило $31,5 \pm 1,4$ %, $19,2 \pm 2,1$ % и $17,4 \pm 2,4$ % соответственно. У коров с клиническим и субклиническим маститом количество В-лимфоцитов было ниже, чем у здоровых коров на 12,3

и 14,1 %. Абсолютное количество В-лимфоцитов находилось в диапазоне от $1,8 \cdot 10^9/\text{л}$ до $2,2 \cdot 10^9/\text{л}$ и составляло в среднем $2,1 \pm 0,5 \cdot 10^9/\text{л}$ у коров с признаками мастита и $1,8 \pm 0,1 \cdot 10^9/\text{л}$ – у здоровых животных. Соотношение Т- и В-лимфоцитов у здоровых животных равнялось $1,8 \pm 0,1$ у. е., а у животных с признаками клинического и субклинического мастита – $1,4 \pm 0,1$ у. е. Данные иммунологические исследования указывают на низкий уровень иммунокомпетентных клеток, что свидетельствуют о снижении клеточно-опосредованного иммунитета.

У коров с субклиническим и клиническим маститом отмечено снижение фагоцитарной активности до 42,7 и 40,2 % соответственно, что объясняется хроническим течением воспалительного процесса и поддержанием аутоиммунного процесса, так как при этом нарушается функция разрушения и выведения иммунных комплексов из организма.

В качестве показателя развития воспалительного процесса в организме коров при разном течении мастита использовали значение циркулирующих иммунных комплексов. Установлено, что циркулирующие иммунные комплексы формируются после каждой встречи антигена с антителом и разрушаются усилиями мононуклеарных фагоцитов по завершении активации комплемента. В случае избытка антигенов возбудителей антитело теряет способность к нейтрализации вируса, вместо чего им образуются циркулирующие иммунные комплексы, оседающие в кровеносных сосудах органов, вызывая там воспалительные процессы. Следствием этого становится повреждение тканей и возникновение системных заболеваний. При проведении исследования уровень ЦИК у здоровых животных и животных с субклиническим маститом находился в пределах нормативных значений, и составил $98,6 \pm 7,2$ и $114,7 \pm 9,8$ у. е. соответственно. У коров с клиническим маститом наблюдалось повышенное содержание циркулирующих иммунных комплексов – $171,8 \pm 9,9$ у.е., что на 32,2 % больше границ физиологической нормы. Возможно, это связано с нарушением факторов гуморального иммунитета при воспалительной реакции и увеличением выработки иммуноглобулинов, а также обусловлено ростом антигенов, образующихся в результате активизации фагоцитоза по кислород-зависимому механизму, что подтверждается нарушением факторов гуморального иммунитета и усилением воспалительной реакции, происходящей в молочной железе.

Заключение

В результате исследований нами установлено, что воспалительные реакции, протекающие в молочной железе коров, сопровождаются изменениями в крови, как в гематологических, так и в иммунологических показателях.

1. *Гематологические показатели крови.* Средний показатель эритроцитов у коров, больных клиническим маститом, составил $5,91 \pm 0,4 \cdot 10^{12}/\text{л}$, что является нижней границей нормы. Средний уровень лейкоцитов у животных с суб-

клиническим маститом был на 12,2 % больше, чем у клинически здоровых коров. У коров с клинически выраженным маститом количество лейкоцитов было приближено к верхней границе нормы, что на 32,9 % больше, чем у здоровых животных и на 23,7 % больше, чем у коров с субклиническим маститом.

2. *Лейкоцитарная формула.* У отдельных животных с клиническим и субклиническим маститом установлено повышение палочкоядерных нейтрофилов до $5,9 \pm 0,9$ и $6,1 \pm 1,2$ % соответственно. У коров с клиническим маститом отмечено снижение лимфоцитов до $38,3 \pm 1,7$ %, а у коров с субклиническим маститом – до $52,1 \pm 0,5$ %.

3. *Иммунологические показатели крови.* Содержание относительного количества Т-лимфоцитов у животных с субклиническим маститом было ниже, чем у клинически здоровых животных на 27,3 %, при клиническом проявлении мастита количество Т-лимфоцитов составило $34,2 \pm 2,1$ %, что на 33,3 % ниже, чем у здоровых животных. Количество В-лимфоцитов у коров с клиническим и субклиническим маститом было ниже, чем у здоровых коров на 12,3 и 14,1 % соответственно. Отмечено снижение фагоцитарной активности до 42,7 и 40,2 % соответственно (субклинический и клинический мастит). У коров с клиническим маститом наблюдалось повышенное содержание циркулирующих иммунных комплексов, что на 32,2 % больше границ физиологической нормы.

Таким образом, проанализировав данные, полученные в ходе исследований иммуногематологических показателей в организме коров при воспалении молочной железы, и имеющиеся результаты отечественных и зарубежных ученых, посвященные данному вопросу, можно сделать вывод, что мастит возникает на фоне вторичных иммунодефицитов различной этиологии, о чем говорят установленные нарушения факторов клеточного и гуморального иммунитета.

Литература

1. Верещак, Н. А. Оценка показателей иммунной системы и методы коррекции иммунной недостаточности у продуктивных животных и птицы в Уральском регионе : дис. ... д-ра вет. наук : 16.00.03, 16.00.01 / Верещак Наталья Александровна. – Екатеринбург, 2007. – 304 с.
2. Иммунитет и морфологические изменения в молочной железе коров при мастите / Ю. Н. Масьянов [и др.] // Вестн. рос. с.-х. науки. – 2009. – № 4. – С. 69–71.
3. Смирнов, П. Н. Панель наиболее информативных тестов для оценки резистентности животных / П. Н. Смирнов, Н. В. Ефанова ; ФГОУ ВПО «Новосибирский гос. агр. ун-т», Россельхозакадемия, Сиб. отд-ние, ГНУ ИЭВСиДВ ГНУ ВИЭВ. – Новосибирск, 2007. – 40 с.
4. Характеристика показателей иммунной системы и методы коррекции иммунной недостаточности у животных Уральского региона / И. А. Шкуратова [и др.]. – Екатеринбург : Уральское изд-во, 2012. – 127 с.
5. Ческидова, Л. В. Аутоиммунные процессы в организме коров при мастите : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.07 / Ческидова Лилия Валерьевна. – СПб., 2010. – 23 с.
6. Aitken, S. L. Immunopathology of mastitis: insights into disease recognition and resolution / S. L. Aitken, C. M. Corl, L. M. Sordillo // J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. – 2011. – Vol. 16. – P. 291–304. – doi:10.1007/s10911-011-9230-4
7. The mononuclear phagocyte system revisited / D. A. Hume [et al.] // J. Leukoc. Biol. – 2002. – Vol. 72. – P. 621–627.

Поступила 31.05.2017 г.

**А. А. Воинова, С. П. Ковалев, Г. С. Никитин,
В. А. Трушкин, И. В. Никишина**

ГЕПАТОРЕНАЛЬНЫЙ СИНДРОМ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ

*ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия
ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия*

Введение

Печень является самой крупной железой внутренней секреции в организме и выполняет множество функций, она участвует практически во всех обменных процессах, инактивирует токсины организма, является своеобразным «депо» некоторых витаминов (В₁₂, А, D, К, РР) и микроэлементов (цинк, медь, железо и др.). Ее заболевания, такие как гепатиты и гепатозы различного происхождения, вызывают изменения не только непосредственно в ней самой, но и в других органах и системах. Чаще страдают пищеварительная, нервная, сердечно-сосудистая системы, нарушается репродуктивная функция. Осложнением острых и хронических заболеваний печени также является гепаторенальный синдром (ГРС). Под ГРС понимают функциональную, олигурическую, прогрессирующую, но в то же время обратимую патологию почек, возникающую при тяжелых заболеваниях печени.

Болезни печени занимают одно из лидирующих мест среди патологий, встречающихся у высокопродуктивных животных в молочных стадах [1]. Содержание большого количества животных на ограниченной площади, нехватка рациона, скармливание недоброкачественных кормов и избыток концентратов в рационе продуктивных животных приводят к нарушению обмена веществ и негативно сказываются на функциональном состоянии «главного фильтра» организма [2]. В связи с этим у коров возникают серьезные патологии – токсический и жировой гепатозы.

Цель работы – определить распространенность ГРС среди коров с жировым гепатозом и выявить основные клинические, биохимические и патоморфологические признаки данного состояния.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в ЗАО «Красносельское» Ломоносовского района Ленинградской области. Было проведено клиническое исследование всего дойного поголовья крупного рогатого скота для выявления распространенности ГРС. Исследовано 505 животных, у 118 установлены признаки гепатоза. Из них более тщательно обследованию подвергли 12 животных,

у которых в анамнезе отмечено уменьшение суточного диуреза. Этим коровам помимо общих методов проводили гематологические исследования, анализ мочи, а также гистологическое исследование (от четырех животных были получены образцы) для выявления изменений в микроструктуре печени и почек. Материал для гистологического исследования фиксировали в 95,0%-ном растворе этилового спирта в течение 24 ч, после чего по общепринятой методике заливали в парафин [3]. Затем изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также Шифф-йодной кислотой по Мак-Манусу для выявления гликогена. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры Axio Scope A1 (Германия).

Результаты и их обсуждение

Осмотром конъюнктивы у четырех животных была выявлена иктеричность, при пальпации печень у всех животных была увеличена. При перкуссии справа в 11-м межреберье установлено, что край печени находится ниже линии маклока в среднем на $6,5 \pm 0,5$ см. Почки методами пальпации и перкуссии у коров не обнаруживались, но многие животные проявляли беспокойство при перкуссии области почек – выгибали спину или, наоборот, прогибали ее. При использовании метода поколачивания почек у 11 животных выявили болезненную реакцию: коровы стремились отойти в сторону от исследователя, иногда издавали стон.

Мочу для исследования от животных получали при естественном акте мочеиспускания или посредством массажа в области промежности. При исследовании у всех обследованных животных установлена протеинурия, кетонурия (от + до +++), гиперстенурия определена у 9 коров, уробилемурия и билирубинурия выявлена у 8 и 5 животных соответственно. При микроскопии осадка мочи были выявлены лейкоцитурия и гематурия, во всех пробах количество эпителия почечных канальцев было увеличено в 3–4 раза.

Показатели биохимического и морфологического исследования крови больных коров представлены в табл. 1 и 2.

Из табл. 1 видно, что у коров с признаками ГРС уровень общего белка повышен и его концентрация была выше на 2,3 %, процентное содержание альбуминов было на 12,0 % ниже, а глобулинов – на 5,0 % выше нормативных значений.

Уровень мочевины был превышен на 92,5 %, при этом количество билирубина находилось в пределах нормативных значений, щелочная фосфатаза – на 7,25 % выше нормы. Также установлен дисбаланс кальций-фосфорного соотношения, которое у здоровых животных должно находиться в пределах 1,5–2,0:1,0, а у коров с признаками ГРС составило 1,1:1,0. Концентрация глюкозы в крови животных находилась на нижней границе нормативных значений.

Таблица 1. Биохимические показатели сыворотки крови коров, больных гепатозом, с признаками ГРС

Показатель	Норма	Животные с признаками ГРС
Общий белок, г/л	62–88	90,9 ± 3,8
Альбумины, %	30–50	26,3 ± 2,5
Глобулины, %	50–70	73,7 ± 3,0
Мочевина, ммоль/л	2,0–6,0	11,78 ± 0,31
Билирубин, мкмоль/л	0,5–10	7,9 ± 0,73
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	20–80	85,8 ± 11,2
Кальций, ммоль/л	2,3–3,2	2,23 ± 0,13
Фосфор, ммоль/л	1,5–2,1	2,02 ± 0,1
Глюкоза, ммоль/л	2,2–4,5	2,2 ± 0,2

При анализе результатов, представленных в табл. 2, можно сказать, что у коров с признаками ГРС выявляется эритропения и гипохромемия, количество эритроцитов и гемоглобина на 19,8 и 11,0 % соответственно ниже нормы. При этом количество лейкоцитов и гематокритная величина находятся в пределах нормативных значений.

Таблица 2. Морфологические показатели крови коров, больных гепатозом, с признаками ГРС

Показатель	Норма	Животные с признаками ГРС
Лейкоциты, Г/л	4,5–12,0	8,8 ± 0,3
Эритроциты, Т/л	5,0–7,5	4,01 ± 0,12
Гемоглобин, г/л	99,0–129,0	88,0 ± 5,0
Гематокрит, %	24,0–46,0	29,0 ± 6,0
СОЭ, мм/ч	0,5–1,5	0,2 ± 0,1

При исследовании СОЭ отмечено ее замедление у всех исследуемых животных. При анализе лейкограммы отмечается простой регенеративный сдвиг ядра влево, установлено увеличение процентного отношения моноцитов.

Результаты гистологического исследования образца печени и почки, полученной при вынужденном убое, представлены на рис. 1–4.

Гистологическое исследование образца печени, представленное на рис. 1 и 2, показало наличие в органе глубоких дистрофических изменений, таких как очаговая и диффузная жировая инфильтрация, умеренное расширение пространств Диссе. ШИК-реакцией выявлено значительное снижение содержания гликогена в гепатоцитах.

Из рис. 3 и 4 видно, что в почках отмечалась гиалиново-капельная дистрофия эпителия почечных канальцев, скопление гиалиноподобного вещества в пространствах между капсулой и сосудистым клубочком, развитие фиброзирующего интерстициального гломерулонефрита.

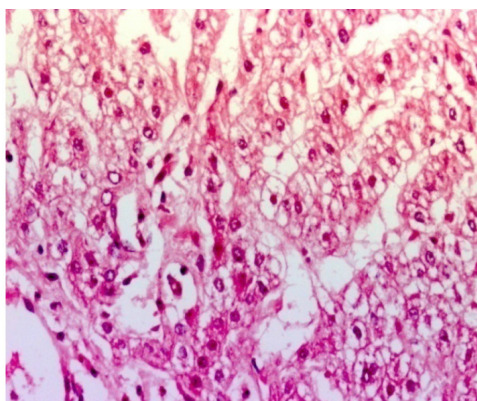


Рис. 1. Срез печени коровы. Выраженный крупнокапельный стеатоз и умеренное расширение пространств Диссе. Окраска гематоксилин-эозин. $\times 200$

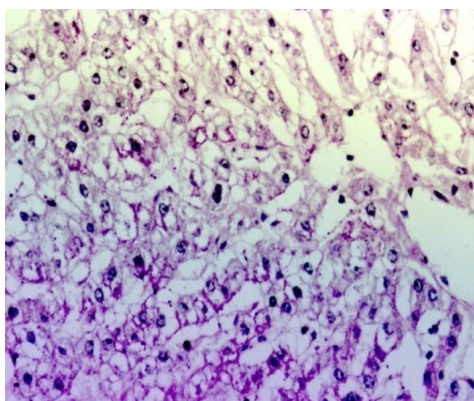


Рис. 2. Срез печени коровы. Шик-реакция. Значительное снижение содержания гликогена. $\times 200$

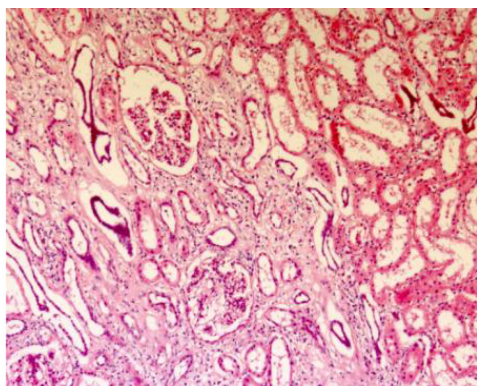


Рис. 3. Срез почки коровы. Окраска гематоксилин-эозин. Признаки фиброзирующего интерстициального гломерулонефрита. $\times 50$

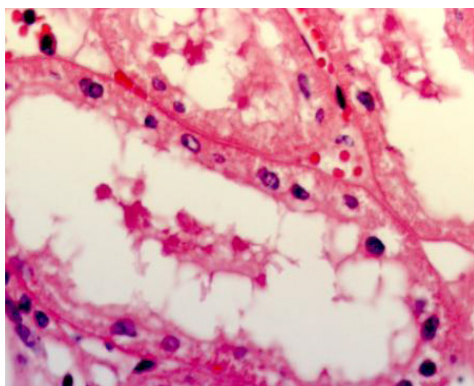


Рис. 4. Срез почки коровы. Гиалиново-капельная дистрофия эпителия почечных канальцев. Окраска гематоксилин-эозин. $\times 400$

Заключение

Распространенность ГРС среди животных, страдающих жировым гепатозом различной степени тяжести, составляет около 10,0 %, т. е. 2,3 % от общего поголовья. При гепаторенальном синдроме у крупного рогатого скота ведущими клиническими признаками являются олигурия, гиперстенурия, иктеричность слизистой оболочки, увеличение перкуторных границ печени и болезненная реакция в области почек. У больных животных отмечается эритропения и гипохромия, СОЭ замедляется до 0,2 мм/ч. Биохимическое исследование крови показывает повышение концентрации общего белка на 2,3 % и составляет 90,9 г/л, при этом процентное содержание альбуминов снижается на 12,0 %,

а глобулинов повышается на 5,0 %, уровень мочевины и щелочной фосфатазы повышается на 92,5 % и 7,25 %, и доходит до уровней $11,78 \pm 0,31$ ммоль/л и $85,8 \pm 11,2$ МЕ/л соответственно. При гистологическом исследовании печени и почек обнаруживают глубокие дистрофические изменения в них в виде жировой инфильтрации и гиалиново-капельной дистрофии, в почках также выявляют признаки гломерулонефрита.

Литература

1. Воинова, А. А. Сравнительная характеристика функционального состояния коров разного направления продуктивности / А. А. Воинова // Материалы 69-й Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов СПбГАВМ. – СПб. : Изд-во «СПбГАВМ», 2015. – С. 14.
2. Клиническая оценка применения препарата «Гепатоджект» у телят / А. А. Воинова [и др.] // Материалы 68-й Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов СПбГАВМ. – СПб. : Изд-во ФГБОУ ВПО «СПбГАВМ», 2014. – С. 29.
3. Мужикян, А. А. Особенности гистологической обработки органов и тканей лабораторных животных / А. А. Мужикян, М. Н. Макарова, Я. А. Гущин // Междунар. вестн. ветеринарии. – 2014. – № 2. – С. 103–109.

Поступила 07.06.2017 г.

УДК 636.2.034:614.91

В. Г. Тюрин¹, В. Г. Семенов², Д. А. Никитин²

РЕАЛИЗАЦИЯ БИОРЕСУРСНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЧЕРНО-ПЕСТРОГО СКОТА НА ФОНЕ ИММУНОКОРРЕКЦИИ

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии», г. Москва, Россия

²ФГБОУ ВО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия», г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия

Введение

Молочное скотоводство Российской Федерации – одна из самых доходных отраслей животноводства, и необходимость его дальнейшего развития диктуется удовлетворением потребностей населения в продуктах питания собственного производства, что играет важную роль в продовольственной безопасности страны.

Современные технологии зачастую нарушают сложившиеся в процессе филогенеза взаимоотношения организма животных с окружающей средой и традиционными условиями содержания, кормления и обслуживания, отрывая их от природной среды обитания и приближая к «биологической машине», задачей которой является производство целевой продукции. Животным не удается избежать действия стресс-факторов, что приводит к снижению неспецифической устойчивости организма, различным функциональным нарушениям

и, как следствие, к заболеваниям. Особенно чувствителен организм к воздействиям неблагоприятных факторов среды обитания в первый и последний месяцы внутриутробного развития, и первые месяцы новорожденности [1–3].

В контексте вышеизложенного вопросы реализации воспроизводительных и продуктивных качеств черно-пестрого скота за счет иммунопрофилактики организма являются актуальными и проблемными для современной зоотехнической и ветеринарной науки и практики.

Цель работы – реализация биоресурсного потенциала воспроизводительных и продуктивных качеств черно-пестрого скота активизацией неспецифической резистентности организма биопрепаратами PS-2 и Prevention-N-A.

Материалы и методы исследований

Экспериментальная часть научно-исследовательской работы проведена на молочно-товарной ферме СХПК имени Ульянова Аликовского района Чувашской Республики, а обработка материалов осуществлена в лаборатории био- и нанотехнологий и в лаборатории кафедры морфологии, акушерства и терапии ФГБОУ ВО Чувашская ГСХА в 2012–2017 гг. Объектами исследований были стельные (за 45 сут. до отела) и новотельные (3–5 сут. после отела) коровы черно-пестрой породы, телята с рождения и молодняк. Были подобраны три группы сухостойных коров по принципу пар-аналогов с учетом клинико-физиологического состояния, возраста и живой массы по 10 животных в каждой. По аналогичному же принципу подбирали группы новорожденных телят. Исследования проведены на фоне сбалансированного кормления.

С целью реализации биоресурсного потенциала черно-пестрого скота использовали биопрепараты PS-2 и Prevention-N-A, разработанные нами. Препараты представляют собой водные суспензии, содержащие полисахаридный комплекс клеток *Saccharomyces cerevisiae*, иммобилизованных в геле агаровом, с добавлением производного бензимидазола, кроме того, в состав Prevention-N-A включен антибактериальный препарат группы аминогликозидов.

Коровам 1-й опытной группы внутримышечно инъецировали PS-2 в дозе 10 мл трехкратно за 45–40, 25–20 и 15–10 сут. до отела, 2-й опытной группы – Prevention-N-A в указанной дозе и сроки, контрольной группы – биопрепараты не вводили. Телятам 1-й и 2-й опытных групп внутримышечно инъецировали соответственно PS-2 и Prevention-N-A двукратно на 2–3-е и 7–9-е сутки жизни в дозе 3 мл.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что внутримышечное введение глубокоствольным коровам биопрепаратов PS-2 и Prevention-N-A предупреждает гинекологические заболевания и повышает воспроизводительную функцию. Под воздействием препаратов у коров сокращались сроки отделения плодных оболочек на 6,0 и 6,4 ч, исключалось задержание последа, предупреждались послеродовые осложнения и заболевания молочной железы. Риск возникновения субинволюции матки

и эндометрита в первом случае уменьшался в 3,0 и 2,0 раза соответственно, а во втором – исключался ($P < 0,05$). На фоне иммунокоррекции у коров сокращались сроки наступления половой охоты на 11,6 и 14,2 сут., уменьшался индекс осеменения в 1,6 и 1,8 раза, укорачивался сервис-период на 22,4 и 28,4 сут. и повышалась оплодотворяемость в одну охоту в 2,5 и 3,0 раза ($P < 0,05-0,01$).

У новотельных коров 1-й и 2-й опытных групп на фоне внутримышечного введения биопрепаратов установлено увеличение в крови содержания эритроцитов – на $0,56$ и $0,62 \cdot 10^{12}/л$ ($P < 0,05$), лейкоцитов – на $0,26$ и $0,42 \cdot 10^9/л$ ($P > 0,05$), уровня гемоглобина – $4,4$ и $6,4$ г/л ($P < 0,05-0,01$) соответственно по сравнению с контрольными данными. Увеличение количества эритроцитов и концентрации гемоглобина в крови животных опытных групп свидетельствует об улучшении у них гемопоэза, а повышение числа лейкоцитов – об активизации клеточных защитных факторов организма.

Установленная эозинопения в крови коров контрольной группы за 10–5 суток до отела и на 3–5-е сутки после отела свидетельствует о том, что животные испытывали стресс. Увеличение эозинофилов в крови животных под воздействием биопрепаратов PS-2 и Prevention-N-A за 10–5 суток до отела – на $0,8$ и $0,6$ % и через 3–5 суток после отела – на $0,6$ и $0,8$ %, является результатом активизации неспецифической устойчивости организма.

Установлено, что содержание палочкоядерных форм нейтрофилов в крови новотельных коров 1-й и 2-й опытных групп было ниже, чем в контроле на $1,8$ % ($P < 0,05$), а количество сегментоядерных форм этого вида лейкоцитов оказалось, наоборот, выше на $0,2$ и $0,6$ % ($P > 0,05$) соответственно. Указанные качественные изменения в стадиях развития нейтрофилов свидетельствуют об активизации неспецифической резистентности организма.

Биопрепараты активизировали продукцию лимфоцитов кроветворными органами. Количество этого вида агранулоцитов в крови животных опытных групп было выше на $0,2-1,0$ и $0,6-1,4$ % ($P < 0,05$), чем в контроле.

Итак, установленные физиологический лейкоцитоз, умеренная нейтропения со сдвигом ядра вправо и лимфоцитоз характеризуют повышение активности клеточных факторов неспецифической резистентности организма после применения PS-2 и Prevention-N-A.

Внутримышечная инъекция коровам PS-2 и Prevention-N-A стимулировала обмен белка, продукцию альбуминов и γ -глобулинов. У животных 1-й и 2-й опытных групп на 3–5-е сутки после отела указанные показатели превышали контрольные на $3,2$ и $2,8$ г/л, $1,4$ и $1,3$ г/л, $2,7$ и $2,1$ г/л соответственно ($P < 0,05-0,01$). В результате биохимических исследований крови, ее плазмы и сыворотки установлено, что внутримышечная инъекция глубокоостельным коровам биопрепаратов повышала щелочной резерв крови на $3,8$ и $5,2$ об.% CO_2 ($P < 0,05-0,01$) вследствие активизации буферных систем, уровень глюкозы – на $0,36$ и $0,30$ ммоль/л ($P < 0,05-0,01$), общего кальция – на $0,18$ и $0,20$ ммоль/л ($P < 0,05$) и неорганического фосфора – на $0,27$ и $0,19$ ммоль/л ($P < 0,05$) соответственно. В то же время биопрепараты не повлияли на обмен провитамина А.

Фагоцитарная активность лейкоцитов, лизоцимная активность плазмы, бактерицидная активность сыворотки крови и содержание в ней иммуноглобулинов у новотельных коров 1-й и 2-й опытных групп оказались выше на 6,2 и 7,0 %, 3,8 и 3,8 %, 5,2 и 5,4 % и на 4,1 и 3,6 мг/мл соответственно, чем в контроле ($P < 0,05-0,001$), что свидетельствует о стимуляции клеточных и гуморальных факторов неспецифической устойчивости организма коров.

На фоне внутримышечного введения телятам биопрепаратов PS-2 и Prevention-N-A установлено повышение их роста и развития. К завершению периода выращивания животные 1-й и 2-й опытных групп превосходили по живой массе контрольных сверстников на 4,6 и 7,0 кг, доращивания – 13,8 и 17,0 кг и откорма – на 19,4 и 24,2 кг соответственно ($P < 0,05-0,01$). При этом среднесуточный прирост у животных опытных групп оказался достоверно выше, чем в контроле, в среднем за период выращивания – на 22,3 и 34,5 г, доращивания – на 52,0 и 55,0 г и откорма – на 31,0 и 40,0 г соответственно ($P < 0,05-0,001$). Аналогичная закономерность выявлена в динамике экстерьерных промеров и коэффициента роста животных сопоставляемых групп.

Установлено, что у телят опытных групп снижались болезни органов дыхания и пищеварения в 2,3 и 7,0 раза, их продолжительность – на 1,3 и 4,3 суток и коэффициент Мелленберга – в 2,8 и 15,4 раза соответственно по сравнению с контролем ($P < 0,05$).

Прирост массы тела животных за период с рождения до 540-суточного возраста оказался выше в 1-й и 2-й опытных группах в среднем на 18,8 и 23,4 кг, а затраты кормов на 1 кг прироста живой массы, наоборот, ниже на 0,36 и 0,45 ЭКЕ соответственно по сравнению с контролем. На фоне применения биопрепаратов предубойная масса молодняка повышалась на 20,3 и 24,4 кг, масса парной туши – на 12,9 и 16,8 кг, убойная масса – на 13,8 и 17,5 кг и масса внутреннего жира – на 0,9 и 0,7 кг.

Таким образом, под влиянием биопрепаратов установлено улучшение откормочных и убойных качеств молодняка ($P < 0,05-0,001$).

У животных опытных групп достоверно повышались в крови концентрация гемоглобина и количество эритроцитов по сравнению с контрольными данными. Следовательно, биопрепараты активизировали эритропоэз и повышали концентрацию гемоглобина в крови, но не оказали влияния на лейкопоэз.

Выявленный факт относительной эозинофилии в крови животных опытных групп позволяет заключить, что испытуемые препараты вызывали антистрессовое действие на организм, особенно в период выращивания телят.

Установлено, что в крови подопытных телят преобладали палочкоядерные формы нейтрофилов, а в последующие сроки исследований – сегментоядерные. Причем количество сегментоядерных нейтрофилов за весь период наблюдения было выше в крови животных опытных групп по сравнению с контролем ($P > 0,05$). Выявленные качественные изменения в стадиях развития нейтрофилов свидетельствуют об активизации неспецифической защиты организма.

На фоне внутримышечной инъекции телятам биопрепаратов установлено повышение продукции красным костным мозгом лимфоцитов – главных клеточных элементов иммунной системы.

Содержание общего белка, альбуминов и γ -глобулинов в сыворотке крови телят 1-й и 2-й опытных групп оказалось достоверно выше к завершению периода выращивания на 3,8 и 5,0 г/л, 3,3 и 4,5 г/л, 3,5 и 3,7 г/л соответственно, чем в контроле ($P < 0,05-0,01$). Кроме того, биопрепараты активизировали буферные системы, обмен глюкозы, общего кальция, неорганического фосфора и провитамина А.

Установлено, что у молодняка, выращенного с применением PS-2 и Prevention-N-A, фагоцитарная активность лейкоцитов оказалась выше, чем в контроле к завершению периода выращивания на 4,0 и 4,6 %, дорастивания – на 4,0 и 6,4 %, откорма – на 2,8 и 3,4 % ($P < 0,05-0,01$). Подобная закономерность прослеживалась и в динамике фагоцитарного индекса. Состояние гуморальной резистентности организма наиболее полно характеризуют лизоцимная и бактерицидная активность сыворотки крови. У животных опытных групп указанные факторы иммунной системы оказались выше, нежели в контроле ($P < 0,05-0,001$). Используемые в опытах препараты стимулировали также продукцию иммуноглобулинов, следовательно, они активизируют как клеточные, так и гуморальные звенья неспецифической устойчивости организма.

Заключение

Биопрепараты PS-2 и Prevention-N-A, активизируя неспецифическую устойчивость организма коров-матерей и новорожденных телят к воздействию эколого-технологических факторов среды обитания, предупреждают послеродовые осложнения и гинекологические заболевания коров и улучшают их воспроизводительные качества, а у телят способствуют профилактике заболеваний органов дыхания и пищеварения, активизируют рост и развитие, улучшают откормочные и убойные качества молодняка.

Литература

1. Мударисов, Р. М. Экстерьерно-конституциональные и хозяйственно-биологические особенности коров голштинской породы / Р. М. Мударисов, Г. Р. Ахметзянова, В. Г. Семенов // Продовольственная безопасность и устойчивое развитие АПК : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Чебоксары, 20–21 ноября 2015 г. – Чебоксары : ФГБОУ ВО Чувашская ГСХА, 2015. – С. 449–454.
2. Петрянкин, Ф. П. Иммуностимуляторы в практике ветеринарной медицины / Ф. П. Петрянкин, В. Г. Семенов, Н. Г. Иванов. – Чебоксары : Новое Время, 2015. – 272 с.
3. Семенов, В. Г. Воспроизводительные и продуктивные качества черно-пестрого скота на фоне иммунокоррекции / В. Г. Семенов, Н. И. Герасимова // Научно-образовательная среда как основа развития агропромышленного комплекса и социальной инфраструктуры села : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию ФГБОУ ВО Чувашская ГСХА, Чебоксары, 20–21 окт. 2016 г. – Чебоксары, 2016. – С. 272–276.

Поступила 11.04.2017 г.

**С. П. Ковалев, В. А. Трушкин, П. С. Киселенко,
А. А. Воинова, Г. С. Никитин**

ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ТЕЛЯТ, РОЖДЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ КЕТОЗОМ КОРОВ

*ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия
ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Россия*

Введение

Имеющиеся в литературе результаты исследований по кетозу молочных коров подчеркивают важность дальнейшего изучения данного заболевания. Эти данные также свидетельствуют о необходимости проведения дальнейшего изучения отдельных сторон этой патологии, в частности о влиянии токсинов на новорожденных телят и в первую очередь на их кроветворение. Данной тематике посвящены лишь единичные сообщения, не раскрывающие сути происходящих процессов в кроветворных органах. Так, в ряде работ сообщают о значительном снижении содержания иммуноглобулинов (IgA, IgM, IgG) в сыворотке крови у коров с проявлением кетоза по сравнению со здоровыми животными [1–4].

В имеющихся немногочисленных работах авторы регистрировали железодефицитную анемию у телят первых дней жизни и в этом видят причину ослабления общего состояния животных, снижение среднесуточных привесов массы тела, повышенной восприимчивости к другим болезням новорожденных и даже их гибель [1, 4, 5].

В. И. Левченко с соавт. [4] анемию у животных 1–3-дневного возраста рассматривают только во взаимосвязи с обеспечением коров-матерей пластическими и биологически активными веществами, влияющими на состояние эритропоэза, а не только как результат недостатка железа в их рационе. При токсической диспепсии отмечается выраженная кетонемия и гликемия. При этом уровень кетоновых тел в крови больных токсической диспепсией телят превышал их содержание у здоровых животных в 2,0 раза и более. Авторы связывают тяжесть заболевания телят с концентрацией кетоновых тел в крови коров-матерей. Они считают, что ведущую роль в патогенезе диспепсии телят играет внутриутробное отравление, особенно в заключительный период беременности, недоокисленными продуктами обмена веществ, в первую очередь кетоновыми телами. Исследователи считают, что токсины, образующиеся при нарушении обмена веществ в организме телят, в том числе и при кетозе, отрицательно влияют на кроветворную функцию костного мозга, являясь одной из причин развития алиментарно-дефицитной и миелотоксической анемии.

О развитии токсикоза у новорожденных ягнят при кетозе маток сообщают И. С. Егошин и В. М. Митрофанов [6]. У больных ягнят отмечались анемию, цианоз слизистых оболочек, диспепсия, снижение температуры тела. В крови концентрация эритроцитов была снижена более чем в 2,0 раза, больные животные погибали в первые двое суток жизни.

Материалы и методы исследования

Для изучения влияния повышенного количества кетоновых тел у коров-матерей, больных субклиническим кетозом, на гематологические показатели у новорожденных телят были проведены исследования состава крови у последних. В этой серии опытов были подобраны две группы новорожденных телят по 10 животных в каждой, родившихся от клинически здоровых (1-я группа) и больных субклиническим кетозом коров-матерей (2-я группа). Кетоновые тела в моче определяли по методу Лестрадэ, в крови – йодометрическим методом в микродиффузных колбах типа Кьельдаля по Энгфельду в модификации С. М. Лейтиса и А. И. Одинова. В крови животных также определяли количество эритроцитов и их молодых форм – ретикулоцитов, уровень гемоглобина и гематокритной величины, концентрацию глюкозы, кислотную емкость и резервную щелочность общепринятыми методами. Результаты исследования представлены в таблице.

Морфологические и биохимические показатели крови новорожденных телят, родившихся от здоровых и больных субклиническим кетозом коров ($M \pm m$)

Показатель	Телята		P^*
	здоровые	больные	
Кетоновые тела, ммоль/л	$0,57 \pm 0,04$	$0,87 \pm 0,05$	$< 0,001$
Эритроциты, Т/л	$6,55 \pm 0,14$	$4,97 \pm 0,32$	$< 0,001$
Гематокритная величина, л/л	$0,362 \pm 0,007$	$0,280 \pm 0,015$	$< 0,001$
Ретикулоциты, %	$2,6 \pm 0,28$	$1,9 \pm 0,21$	$> 0,05$
Гемоглобин, г/л	$122,5 \pm 2,5$	$103,0 \pm 0,16$	$< 0,001$
Средний объем эритроцита, мкм ³	$55,34 \pm 1,21$	$56,32 \pm 1,18$	$> 0,05$
Среднее содержание гемоглобина в одном эритроците, пг	$18,77 \pm 0,50$	$20,61 \pm 0,72$	$> 0,05$
Средняя концентрация гемоглобина в одном эритроците, %	$33,97 \pm 0,95$	$35,85 \pm 0,62$	$> 0,05$
Цветовой показатель	$1,03 \pm 0,02$	$1,13 \pm 0,04$	$< 0,05$
Глюкоза, ммоль/л	$5,21 \pm 0,12$	$4,84 \pm 0,10$	$< 0,05$
Кислотная емкость, ммоль/л	$110,5 \pm 3,53$	$92,5 \pm 2,30$	$< 0,001$
Резервная щелочность, об.% CO ₂	$48,55 \pm 1,52$	$41,80 \pm 1,32$	$< 0,001$

*Уровень достоверности (P) выведен при сравнении показателей здоровых и больных животных.

Результаты и их обсуждение

Учитывая, что в задачи наших исследований входило изучение зависимости процессов эритропоэза от состояния уровня токсикоза коров-матерей, нами проведены исследования содержания кетоновых тел в организме новорожденных телят; одновременно у них выполнены анализы крови, характеризующие состояние эритропоэза. Анализ представленных результатов показывает, что у телят обеих групп уровень кетоновых тел не выходил за пределы принятых нормативов. Однако у животных, родившихся от больных кетозом коров, содержание кетоновых тел было выше, чем у телят, родившихся от здоровых животных, и составляло $0,87 \pm 0,05$ и $0,57 \pm 0,04$ ммоль/л соответственно ($P < 0,001$). О повышении уровня кетоновых тел в крови телят, родившихся от больных кетозом коров, также сообщают М. М. Джамбулатов [1], М. Ф. Васильев [8].

При подсчете эритроцитов было установлено, что в крови телят, родившихся от больных кетозом коров, их количество снижалось с $6,55 \pm 0,14$ до $4,97 \pm 0,32$ Т/л ($P < 0,001$). Аналогичные изменения отмечались и в отношении гематокритной величины, которая достоверно уменьшалась у больных телят до $0,280 \pm 0,015$ л/л, в то время как у клинически здоровых животных этот показатель был $0,362 \pm 0,007$ л/л ($P < 0,001$).

Что касается молодых форм эритроцитов – ретикулоцитов, то их концентрация в крови больных телят была несколько ниже, чем у здоровых животных, и составляла $1,9 \pm 0,21$ %, однако это уменьшение носило недостоверный характер ($P > 0,05$).

В отношении содержания гемоглобина в крови также наблюдали его понижение у больных телят с $122,5 \pm 2,5$ до $103,0 \pm 1,6$ г/л ($P < 0,001$).

При расчетах среднего объема эритроцита, среднего содержания гемоглобина в одном эритроците и средней концентрации гемоглобина в одном эритроците были установлены более высокие значения этих показателей у больных телят, составляющие соответственно $56,32 \pm 1,18$ мкм³, $20,61 \pm 0,72$ пг и $35,85 \pm 0,62$ %. У здоровых животных значения указанных показателей были несколько ниже, однако разница по всем указанным показателям была недостоверной ($P > 0,05$).

При определении кислотной стойкости эритроцитов проводили их дифференциацию по физиологическому возрасту. Эти исследования проведены у здоровых и больных анемией телят.

По результатам гемолиза эритроцитов в крови телят были составлены кислотные эритрограммы, на которых видно, что кислотная эритрограмма больных анемией телят сдвинута влево на 0,5 мин, левое крыло поднято. Учитывая данные о снижении числа эритроцитов, установленные у больных телят, можно предположить, что в периферической крови их число сократилось в основном за счет высокостойких к гемолизу клеток, т. е. за счет физиологически молодых форм эритроцитов.

Для определения характера выявленной анемии у телят, рожденных от больных субклиническим кетозом коров, был определен цветовой показатель, который был выше, чем у новорожденных телят, рожденных от здоровых коров, и составил $1,13 \pm 0,04$ по сравнению с $1,03 \pm 0,02$ ($P < 0,05$). Таким образом, по результатам исследований показателей периферической крови у новорожденных телят, рожденных от коров с субклиническим проявлением кетоза, установлено значительное снижение количества эритроцитов, уровня гемоглобина и гематокритной величины. Однако снижение количества ретикулоцитов в крови этих животных, а также незначительное увеличение таких показателей как средний объем эритроцитов, средняя концентрация и среднее содержание гемоглобина в одном эритроците носили недостоверный характер. Повышенный цветовой показатель у больных телят дает основание отнести выявленную у них анемию к гиперхромной.

Данные о пониженном содержании количества эритроцитов, уровня гемоглобина и гематокритной величины у телят, родившихся от больных кетозом коров, встречаются у М. М. Джамбулатова [1] и В. И. Левченко [4].

Анализ данных об уровне глюкозы, кислотной емкости и резервной щелочности в крови у клинически здоровых и больных животных показал, что при кетозе концентрация этих показателей достоверно ниже у телят, рожденных от больных кетозом коров.

Заключение

В результате проведенных исследований было установлено, что у телят, родившихся от коров с кетонемией, уровень кетоновых тел в крови превышал их содержание у молодняка, родившегося от здоровых животных. Полученные в результате исследования показатели периферической крови, характеризующие состояние эритропоэза, имели значительные отклонения у телят, родившихся от больных кетозом коров-матерей. Так, количество эритроцитов в крови новорожденных было снижено на 24,1 %, уровень гемоглобина – на 15,9 и гематокритная величина – на 20,3 %. Выявленная у новорожденных телят анемия имела гиперхромный характер. При этом количество ретикулоцитов, т. е. молодых форм эритроцитов, не имело достоверных отличий у здоровых и больных анемией телят. Также не было существенных различий в среднем объеме эритроцитов, среднем содержании и средней концентрации гемоглобина в одном эритроците.

Литература

1. Джамбулатов, М. М. Роль кетоновых тел в этиологии диспепсии телят в хозяйствах Дагестана / М. М. Джамбулатов, Г. И. Зубаилов. – Кировобад, 1980. – 30 с.
2. Основные синдромы внутренних болезней животных / С. П. Ковалев [и др.]. – СПб. : Изд. СПбГАВМ, 2013. – 48 с.

3. Ковалев, С. П. Некоторые показатели иммунитета у больных анемией телят / С. П. Ковалев // Материалы Междунар. конф. по патофизиологии животных, Санкт-Петербург, 10–12 мая 2006 г. – СПб., 2006. – С. 58–59.
4. Левченко, В. И. Анемия новорожденных телят // В. И. Левченко, Л. М. Богатко, В. М. Соколюк // Ветеринария. – 1990. – № 3. – С. 50–52.
5. Effects of different iron contents in the milk replacer on the development of iron deficiency anaemia veal calves // G. A. Miltenburg [et al.] / Vet. – Q. – 1992. – Vol. 14. – № 1. – P. 18–21.
6. Егошин, И. С. Токсикоз новорожденных ягнят при кетозе маток / И. С. Егошин, В. М. Митрофанов // Ветеринария. – 1983. – № 3. – С. 59–60.

Поступила 07.06.2017 г.

УДК 619:615.37.012

**Л. А. Неминущая¹, О. В. Провоторова¹, П. П. Красочко²,
Д. Н. Филимонов³, С. В. Енгашев³**

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ
СИНБИОТИКА И ЦИПРОВЕНТОРА ПРИ ЛЕЧЕНИИ
ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫХ И РЕСПИРАТОРНЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ ТЕЛЯТ**

¹*ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
биологической промышленности», г. Щелково, Московская обл., Россия*

²*УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия
ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь*

³*ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита», г. Москва, Россия*

Введение

В настоящее время желудочно-кишечные и респираторные заболевания молодняка сельскохозяйственных животных наносят значительный экономический ущерб, это связано со сложной этиологической структурой инфекционных болезней, обусловленной, в частности, появлением микст-инфекций и повышением вирулентности потенциально-патогенных микроорганизмов. Традиционное средство лечения животных – химиотерапевтические средства, в том числе антибиотики, терапевтические курсы которых входят в технологию содержания всех видов животных, например, при лечении и профилактике колибактериоза, респираторного микоплазмоза, сальмонеллеза и других болезней [3–5]. Наряду с положительным действием длительное и бессистемное применение препаратов приводит к появлению ряда побочных эффектов: нарушение микрорасположения равновесия кишечного биотопа за счет подавления активности полезной нормофлоры желудочно-кишечного тракта (ЖКТ);

доминирование условно-патогенных микроорганизмов; появление резистентных к данному антибиотику штаммов патогенных микроорганизмов.

Это вызывает необходимость поиска методов и путей совершенствования существующих и изыскания новых эффективных средств лечения и профилактики.

Одним из путей повышения эффективности антибиотиков является создание комбинированных препаратов, сочетающих лекарственные субстанции одной или разных групп химических веществ. Такие композиции позволяют получать препараты с новыми полезными свойствами, достичь синергического эффекта, сократить затраты на лечение [1, 4]. Другой путь – применение экологически безопасных эффективных препаратов, к которым относятся пробиотики (в том числе на основе микробных метаболитов – метабитики), пребиотики и их комплексы – синбиотики. Такие инновационные препараты не дают побочных эффектов, присущих антибиотикам (развитие дисбактериозов, возникновение лекарственной резистентности), физиологичны по действию, безвредны для животных, просты в изготовлении, экономичны, технологичны для группового применения [2, 3, 5].

Во ВНИТИБП накоплен значительный опыт разработки синбиотических препаратов и технологии их производства для птицеводства и животноводства [2]. Показано, что эффективность их применения обусловлена защитой животных при стрессовых ситуациях (вакцинация, переход на другой вид корма и др.), повышением продуктивности, усвояемости кормов, нормализацией микрофлоры ЖКТ, отказом от использования кормовых антибиотиков. Направление, связанное с исследованием положительной роли инновационных метабитиков и синбиотиков в снижении последствий антибиотикотерапии, является актуальным для АПК России.

Цель работы – оценить эффективность совместного применения синбиотика и антибактериального препарата ципровентор при лечении желудочно-кишечных и респираторных заболеваний телят.

Материалы и методы исследований

Объекты исследований – синбиотик и антибактериальный препарат ципровентор.

Состав нового синбиотика – метабитик (смесь культуральных жидкостей бактерий *L. plantarum*, шт. 8РАЗ, ВКПМ № В-11007 и *B. subtilis*, шт. М-8, ВКПМ № В-1948) и БАД (на основе сухой биомассы дрожжей-сахаромикетов *S. cerevisiae diastaticus*, шт. ВКПМ–γ-1218).

Антибактериальный препарат представляет собой эффективную комбинацию антибиотиков ципрофлоксацин и апрамицин в соотношении 1:4 соответственно. Комбинированный препарат по величинам минимальной подавляющей концентрации ципрофлоксацина и апрамицина эффективнее монопрепаратов

и за счет различных механизмов действия позволяет преодолеть имеющуюся антибиотикорезистентность к ципрофлоксацину [1].

Эффективность сочетанного применения ципровентора и синбиотика определяли на базе ОАО «Возрождение» Витебского района Витебской области на телятах черно-пестрой породы с симптомами катарального воспаления верхних дыхательных путей, бронхопневмонии и энтероколита по симптомам первичного заболевания, клиническим показателям, срокам выздоровления, восстановления динамики привесов, показателям крови.

На 57 телятах проведена оценка эффективности ципровентора, изготовленного в условиях ООО «НВЦ Агроветзащита», примененного в качестве самостоятельного препарата (в соответствии с разработанной схемой применения) и в комплексе с синбиотиком и метабиотиками Лактимет и Бацинил-К. Бацинил-К – пробиотик на основе бактерий *B. subtilis* и продуктов их метаболизма. Лактимет – пробиотик на основе клеток и продуктов метаболизма лактобактерий. Синбиотик – комплекс метабиотика и БАД.

Опыт проводили на телятах черно-пестрой породы (возраст 2–4 месяца) с желудочно-кишечными расстройствами, осложненными бактериальной микрофлорой, из которых сформировали группы по 7–10 голов. В начале опыта телятам задавали ципровентор согласно разработанной инструкции по применению препарата. После окончания курса применения ципровентора телятам опытных групп (№ 2–4) применяли синбиотик и пробиотики по схеме (см. таблицу). Эффективность различных схем лечения больных телят оценивали по приросту массы, срокам выздоровления, сохранности животных и величине основных биохимических показателей крови.

Схема опыта

Группа	Количество голов	Препарат	Срок применения	Доза препарата в сутки
Опытная группа 1	10	Ципровентор	5 дней	0,6 г/10 кг
Опытная группа 2	10	Ципровентор + бацинил	5 дней	0,6 г/10 кг
			5 дней	10,0 мл/гол.
Опытная группа 3	10	Ципровентор + лактимет	5 дней	0,6 г/10 кг
			5 дней	15,0мл/ гол
Опытная группа 4	10	Ципровентор + синбиотик (метабиотик + БАД)	5 дней	0,6 г/10 кг
			5 дней	Метабиотик 15,0 мл/гол. БАД – 15 г/гол.
Контроль – здоровые	10	Без препаратов	–	–
Контроль – больные	7	Без препаратов	–	–

В научно-производственном опыте установлено, что совместное применение синбиотика и ципровентора при лечении желудочно-кишечных и респираторных заболеваний телят более эффективно в сравнении с использованием только ципровентора: сроки выздоровления сокращались на 11 дней;

среднесуточный прирост массы животных и средняя масса теленка в конце опыта (6-й день) увеличивались на 250 г и на 3,0 кг на одну голову соответственно.

Включение в схемы лечения синбиотика и метабиотиков положительно влияло на основные биохимические показатели крови по сравнению со схемой лечения только антибактериальным препаратом: концентрация гемоглобина в крови животных опытных групп выше на 5,2–6,3 %, общего белка – на 2,8–4,2, альбуминов – на 4,0–5,1, глобулинов – на 3,3–5,6 %. Снижение уровня глюкозы (в контрольной группе – 2,5 ммоль/л, в опытных группах – 2,0–2,07 ммоль/л) можно объяснить более интенсивным использованием глюкозы на энергетические цели для обеспечения синтеза белка. Концентрация мочевины была значительно ниже в опытных группах.

Заключение

Как видно из результатов опыта, наилучший результат показала схема, включающая ципровентор и синбиотик: наиболее быстрые сроки выздоровления, увеличение среднесуточных приростов животных, получивших препараты. Установлена положительная роль синбиотиков и пробиотиков в снижении последствий антибиотикотерапии при лечении болезней респираторного и желудочно-кишечного тракта телят комбинированными препаратами.

Литература и источники

1. Доклинические и клинические исследования препарата Ципровентор – нового комплексного антибиотика для ветеринарии / С. В. Енгашев [и др.] // Ветеринария. – 2016. – № 12. – С. 49–51.
2. Инновационные биологически безопасные препараты для ветеринарии / А. Я. Самуйленко [и др.] // Вестн. Рос. акад. с.-х. наук. – 2014. – № 2. – С. 45–46.
3. Елисеева, Е. Н. Использование химиотерапевтических, пробиотических и иммуномоделирующих препаратов и дезинфектантов / Е. Н. Елисеева // Материалы VII Междунар. вет. конгр. по птицеводству. – М., 2011. – С. 117–119.
4. Комплексные препараты. Информация для ветеринарных врачей [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://vetvrach.info/antibiotiki19.html>. – Дата доступа: 31.03.2016.
5. Шевелева, М. А. Современные представления о применении различных групп пробиотических средств при антибиотикотерапии / М. А. Шевелева, Г. В. Раменская // Антибиотики и химиотерапия. – 2009. – Т. 54, № 3–4.1. – С. 61–68.

Поступила 30.06.2017 г.

М. А. Надаринская, О. Г. Голушко, А. И. Козинец, М. С. Гринь

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА КРОВИ
МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
ПРИ СКАРМЛИВАНИИ ДОБАВКИ «ЛАКТУМИН»**

*РУП «Научно-практический центр Национальной академии
наук Беларуси по животноводству», г. Жодино, Минская обл., Беларусь*

Введение

В последнее время высокий уровень заболеваемости молодняка сельскохозяйственных животных, связанный с нарушением нормального микробиоценоза пищеварительного тракта, является важнейшей проблемой современного промышленного животноводства. Резкое уменьшение нормальной кишечной микрофлоры оказывает отрицательное влияние на пищеварение, инактивацию продуктов метаболизма, что приводит к снижению иммунитета организма животных. Введение молодняку в составе комбикорма ростовых факторов (пребиотиков) для стимуляции активности бифидобактерий в толстом отделе кишечника снижает распространение дисбактериозов и падеж животных от кишечных инфекций. Одним из известнейших уже более полувека пребиотиков является лактулоза.

Лактулоза – это продукт глубокой переработки молока – синтетический дисахарид, не встречающийся в природе. Попадая в толстый кишечник, она служит питательным субстратом для сахаролитических бактерий (лишь около 0,25–2,00 % всасывается в неизменном виде в тонкой кишке). В настоящее время доказана безопасность применения и эффективность лактулозы при многих заболеваниях желудочно-кишечного тракта, печени и других органов, связанных с дисбактериозом [1, 2].

Добавки с функциональными свойствами, оказывая регулирующее действие на физиологические функции и биохимические реакции, подобные кормовые средства поддерживают состояние здоровья животных и снижают риск возникновения заболеваний, в том числе вызванных нарушением микробного биоценоза пищеварительного тракта [3–5].

Актуальность разработки добавок на основе лактулозы, представляет собой рациональный способ обеспечения при введении концентрата в комбикорма для групп сельскохозяйственных животных, более подверженных стрессовым расстройствам, вызывающих гибель микробиоценозов под влиянием разного рода стрессов, таких как молодняк крупного рогатого скота, с целью стимулирования естественной защиты организма животных и тем самым направления метаболических превращений на повышение продуктивности.

Материалы и методы исследований

Для установления эффективности ввода лактулозосодержащей добавки «Лактумин», разработанной сотрудниками РУП «Институт мясо-молочной промышленности», был организован и проведен научно-хозяйственный опыт в РДУП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области в рацион телят молочного периода. По принципу пар-аналогов с учетом возраста и живой массы были сформированы три группы телят по 12 голов в каждой со средней живой массой 73 кг в возрасте 2 месяцев.

Кормовую добавку «Лактумин» скармливали телятам II опытной группы в количестве 9 г в сутки на голову, а III опытной группе – 18 г в сутки на голову в смеси с молоком или ЗЦМ. Животные II опытной группы с кормовой добавкой «Лактумин» получали ежедневно 1,8 г лактулозы, III опытной группы – 3,6 г лактулозы. Телят I контрольной группы кормили без использования кормовой добавки. Продолжительность предварительного периода составила 7 дней, учетного – 70 дней.

Для контроля за состоянием организма животных исследовали кровь, пробы которой отбирали для исследований – через 2,5–3,0 ч после утреннего кормления молодняка, через 30 дней и по окончании ее ввода в рацион. Пробы отбирали от четырех животных каждой группы до кормления из яремной вены.

Гематологические показатели определяли при помощи автоматического анализатора «Medonic CA-620». Химический состав добавки «Лактумин» определяли в ГУ «ЦНИЛхлебопродукт» по общепринятым методикам. Массовая доля лактулозы составила 15,0–25,0 %, массовая доля сахаров – 23,8, кальция – 2,7, фосфора – 0,62 %.

Результаты и их обсуждение

Интенсивность обменных процессов в организме подразумевает под собой повышение окислительной способности крови и увеличение потребностей в кислороде, связанных с такими изменениями. В первую очередь надо отметить положительное влияние пребиотической добавки «Лактумин» на повышение морфофункциональных свойств эритроцитов (см. таблицу).

У зрелых эритроцитов нет ядра и органелл, цитоплазма заполнена гемоглобином, сложным белком, способным нестойко связываться как с кислородом, так и с углекислым газом. Именно эти свойства гемоглобина обеспечивают основную функцию эритроцитов – газообмен. Средний объем эритроцитов (MCV) снизился на 3,5 и 9,5 %, при снижении ширины распределения эритроцитов (RDW) на 7,7 и 10,7 %, что указывает на то, что эти форменные элементы крови стали меньше. Уменьшение объема повышает скорость обмена кислорода в эритроците, а уменьшение ширины распределения влияет на повышение их функциональной активности.

Морфофункциональные свойства крови молодняка крупного рогатого скота*

Показатель	Группа		
	I (контрольная)	II (опытная)	III (опытная)
RBC, $10^{12}/л$	<u>$5,44 \pm 0,45$</u> $5,36 \pm 0,15$	<u>$5,38 \pm 0,37$</u> $5,86 \pm 0,15$	<u>$4,53 \pm 0,74$</u> $5,30 \pm 0,33$
MCV, $мкм^3$	<u>$42,17 \pm 1,69$</u> $39,70 \pm 0,50$	<u>$40,70 \pm 0,44$</u> $41,90 \pm 1,64$	<u>$38,13 \pm 1,51$</u> $40,90 \pm 0,93$
RDW, %	<u>$16,50 \pm 0,177$</u> $15,13 \pm 0,33$	<u>$15,23 \pm 0,441$</u> $14,70 \pm 0,130$	<u>$14,73 \pm 0,82$</u> $14,80 \pm 0,55$
RDW _a , $мкм^3$	<u>$23,86 \pm 1,57$</u> $20,80 \pm 0,53$	<u>$21,23 \pm 0,433$</u> $21,13 \pm 1,230$	<u>$20,37 \pm 1,15$</u> $21,45 \pm 1,13$
HCT, %	<u>$23,03 \pm 2,85$</u> $21,40 \pm 1,17$	<u>$21,87 \pm 1,72$</u> $24,60 \pm 1,58$	<u>$20,56 \pm 1,55$</u> $22,70 \pm 1,01$
PLT, $10^9/л$	<u>$427,3 \pm 93,2$</u> $657,0 \pm 138,9$	<u>$361,3 \pm 70,3$</u> $381,3 \pm 34,8$	<u>$391,0 \pm 150,5$</u> $430,0 \pm 95,3$
MPV, $мкм^3$	<u>$8,58 \pm 0,87$</u> $10,00 \pm 0,98$	<u>$8,30 \pm 0,90$</u> $7,55 \pm 0,09$	<u>$8,37 \pm 0,77$</u> $9,60 \pm 0,56$
PCT, %	<u>$0,38 \pm 1,12$</u> $0,68 \pm 0,19$	<u>$0,31 \pm 0,097$</u> $0,28 \pm 0,030$	<u>$0,35 \pm 0,17$</u> $0,58 \pm 0,56$
PDV, $мкм$	<u>$8,87 \pm 0,09$</u> $8,81 \pm 0,03$	<u>$8,70 \pm 0,06$</u> $8,71 \pm 0,04$	<u>$8,83 \pm 0,15$</u> $8,78 \pm 0,12$
HGB, г/л	<u>$112,0 \pm 4,04$</u> $109,8 \pm 3,17$	<u>$106,0 \pm 7,54$</u> $112,5 \pm 3,12$	<u>$100,0 \pm 3,60$</u> $110,8 \pm 1,61$
MCHC, г/л	<u>$493,7 \pm 39,3$</u> $519,0 \pm 24,9$	<u>$485,3 \pm 13,4$</u> $462,3 \pm 26,4$	<u>$602,7 \pm 76,3$</u> $490,3 \pm 19,4$
MCH, 10^3 мм^3	<u>$20,7 \pm 0,90$</u> $20,5 \pm 0,74$	<u>$20,4 \pm 1,11$</u> $19,2 \pm 0,48$	<u>$22,73 \pm 2,53$</u> $20,00 \pm 0,63$
Лейкоциты, $10^9/л$	<u>$18,10 \pm 1,85$</u> $14,68 \pm 1,93$	<u>$13,70 \pm 2,45$</u> $12,98 \pm 1,38$	<u>$15,70 \pm 1,67$</u> $11,18 \pm 1,84$

*В числителе – после 30 дней скормливания, в знаменателе – после 90 дней скормливания добавки «Лактумин».

В наших исследованиях наблюдалось понижение показателей количества эритроцитов в пределах физиологической нормы (RBC) в крови опытных телят II и III опытных групп через месяц поедания добавки на 1,1 и 8,7 % соответственно.

В макрофагах селезенки, фагоцитирующих эритроциты, гемоглобин эритроцитов расщепляется на билирубин и гемосидерин (пигмент, содержащий железо). Анализ содержания эритроцитов в конце периода исследований свидетельствует о том, что во II опытной группе количество «красных кровяных телец» было выше контрольного результата на 9,3 % при практически неизменном показателе у телят в III опытной группе. Однако стоит отметить, что количество эритроцитов у контрольных животных в сравнении с предыдущим периодом не имело отличий. Тогда как высокая интенсивность течения окислительно-восстановительных реакций в организме опытных животных харак-

теризовалась повышением уровня эритроцитов на 8,9 % во II опытной группе и на 17,0 % – в III опытной группе в сравнении с показателями предшествующего гематологического анализа.

Инициация синтеза тромбоцитарных клеток наблюдается из-за повреждающего действия метаболизма на мембраны и кровеносные стенки сосудов. В неповрежденном сосуде тромбоциты не взаимодействуют друг с другом и не адгезируют за счет электростатического отталкивания от эндотелия. Реакция тромбоцитов на внешние стимулы зависит от соотношения внеклеточных сигналов, активирующих и ингибирующих активность клеток. Мембрана тромбоцитов содержит рецепторы для многих индукторов их активации и ингибиторов. Количество тромбоцитов (PLT) с вводом добавки снизилось на 15,5 % во II опытной группе и на 8,5 % в III опытной группе. Установлено, что в процессе роста и развития у телят I контрольной группы количество тромбоцитов возросло в 1,53 раза, тогда как во II опытной группе разница с предыдущим периодом составила 5,5 % и в III опытной группе она равнялась 9,8 %.

Связь размера тромбоцитов с их функциональной активностью, содержанием в гранулах тромбоцитов биологически активных веществ, склонностью клеток к адгезии зависит от изменений объема тромбоцитов (MPV) перед агрегацией. «Молодые» кровяные пластинки имеют больший объем, поэтому при ускорении тромбоцитопоеза средний объем тромбоцитов возрастает. По мере старения тромбоцитов их объем уменьшается.

Показатели MPV в опытных группах на 3,0 и 2,0 % и PCT на 18,0 и 8,0 % были ниже контроля через месяц исследований. Однако стоит уделить внимание тому факту, что у животных III опытной группы такие показатели против аналогов из II опытной группы были выше.

Анализ показателя за весь период исследований скормливания добавки свидетельствует, что в организме подопытных животных активной инициации адгезивной способности тромбоцитов не наблюдалось, поскольку показатель PDW (относительная ширина распределения тромбоцитов по объему), отражающий в себе ряд особенностей развития и изменения тромбоцитарной клетки в сравнении с данными после месячного скормливания добавки, во всех группах не изменился.

Анализ таких важных для сохранения гуморального равновесия форменных элементов, как лейкоциты, прямого идентификатора иммунного ответа организма и его защитных реакций свидетельствует о положительном влиянии скормливаемого препарата.

В наших исследованиях после месячного поедания добавки в крови контрольных телят уровень лейкоцитов был выше нормативного показателя $4,5-12,0 \cdot 10^9/\text{л}$, тогда как с вводом кормовой добавки «Лактумин» количество лейкоцитов снизилось на 24,3 % во II опытной группе и на 13,2 % в III опытной группе. Концентрация белых кровяных телец по истечении трех месяцев поедания добавки в сравнении с предыдущим периодом у опытных телят снизилась на 5,3 и 28,8 %, что практически вошло в нормативные границы.

Для того чтобы проследить качественные изменения белой крови, прибегают к анализу лейкограммы, где можно определить уровень защитных функций организма животных.

При анализе лейкоцитарной формулы крови подопытных телят, содержания после трехмесячного скармливания добавки «Лактумин» было установлено, что абсолютное количество лимфоцитов, клеток белой крови (подгруппа лейкоцитов), отвечающих в организме за иммунный ответ и иммунную память, в крови телят II опытной группы находилось в пределах контрольного показателя. Повышение вводимой дозировки препарата «Лактумин» в 2,0 раза способствовало снижению уровня лимфоцитов на 22,4 %. Анализ процентного состава лимфоцитов в лейкограмме крови или относительного количества у подопытного молодняка свидетельствовал, что показатели были в пределах допустимых нормативов (40,0–65,0 %). Существенная разница в сравнении с контролем наблюдалась во II опытной группе и составила 4,74 п. п., тогда как в III опытной группе результат был равен контролю.

Процентное содержание средних клеток (содержание смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов от общего количества лейкоцитов в крови) – показатель предшественников лейкоцитов, в единице крови опытных телят снизилось на 33,4 и 31,0 %. Однако в общей лейкограмме абсолютное процентное (выражаемое в %) соотношение отличалось на 6,1 п. п. во II опытной группе и на 2 п. п. – в III опытной группе.

По содержанию гранулоцитов наблюдалась сходная тенденция снижения показателей в опытных образцах крови относительно контрольных, разница составила 5,9 и 17,6 % во II опытной и III опытной группах соответственно. С учетом полученных результатов можно указать, что востребованность в защитных рычагах организма у опытных животных была ниже, поскольку развитие собственной симбиотной микрофлоры в кишечнике животного оказывает высокий иммунопротекторный эффект.

Заключение

Скармливание животным лактулозы в количестве 1,8 и 3,6 г в составе добавки «Лактумин» в смеси с заменителем цельного молока молодняку крупного рогатого скота в возрасте от 2 месяцев оказало положительное влияние на морфофункциональные свойства крови, повысило естественные механизмы защиты организма животных, что способствовало улучшению метаболических превращений и повышению стрессоустойчивости микробиоценозов телят к кормовым и другим стрессам.

Литература и источники

1. Храмцов, А. Г. Олигосахариды – пребиотики из лактозы молочного сырья, их функциональное назначение и некоторые свойства лактулозы [Электронный ресурс] / А. Г. Храмцов, С. А. Рябцева, Д. О. Мячина. – Режим доступа: http://science.ncstu.Ru/articles/food/2006_204.pdf/file_download. – Дата доступа: 05.07.2017.

2. Храмцов, А. Г. Биотрансформация лактозы в лактулозу [Электронный ресурс] / А. Г. Храмцов, С. А. Рябцева, В. К. Топалов // Сборник научных трудов СевКавГТУ. Сер. «Продовольствие». – 2007. – № 3. – Режим доступа: www.ncstu.ru. – Дата доступа: 05.07.2017.

3. Беюп, Е. А. Дисбактериозы кишечника и их клиническое значение / Е. А. Беюп, И. Б. Куваева // Клиническая медицина. – 1986. – С. 37–44.

4. Храмцов, А. Г. Технология кормовых добавок нового поколения из вторичного молочного сырья / А. Г. Храмцов. – М. : ДеЛи принт, 2006. – 328 с.

5. Лактоза и ее производные / Б. М. Синельников [и др.] ; науч. ред. акад. Рос. акад. с.-х. наук А. Г. Храмцов. – СПб. : Профессия, 2007. – С. 582–602.

Поступила 20.07.2017 г.

УДК 606:636+638.2:615.3:612

В. А. Трокоз, А. В. Трокоз

**СОДЕРЖАНИЕ ОБЩЕГО БЕЛКА И ГАММА-ГЛОБУЛИНОВ
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ СВИНЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ
НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ
«ЙОДИС-КОНЦЕНТРАТА»**

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
г. Киев, Украина*

Введение

Минеральные вещества – составная часть тканей организма животных и человека, их ферментов, гормонов и т. п. Они играют важную роль в пластических процессах, обеспечивают оптимальный ход процессов метаболизма. Важным фактором в поддержании высокой продуктивности и жизнеспособности животных является обеспечение их сбалансированным питанием. Именно поэтому для сохранения биологической полноценности рационов их необходимо корректировать по содержанию элементов, которые встречаются в очень малых концентрациях, т. е. микроэлементов [1, 2]. К таким эссенциальным элементам питания относится йод. Одним из перспективных современных препаратов является «Йодис-концентрат» (далее – ЙК), который обладает ярко выраженными антибактериальными, противовирусными и фунгицидными свойствами. Благодаря этому ЙК с успехом используют в животноводстве и растениеводстве. В результате наших исследований установлено, что ЙК можно применять в качестве эффективного антисептика при обработке гряды, а также биостимулятора продуктивности дубового шелкопряда при обогащении кормов [5].

Цель работы – выяснить динамику содержания общего белка и гамма-глобулинов сыворотки крови свиней различных типов высшей нервной деятельности (ВНД) под влиянием ЙК.

Материалы и методы исследований

Опыты проводили на свинках крупной белой породы в возрасте 5–8 месяцев, массой 50–80 кг. Все подопытные животные были клинически здоровыми. В подготовительном периоде опыта было сформировано четыре типологические группы свиней с различными типами ВНД, по четыре головы в каждой: сильного уравновешенного подвижного (СУП), сильного уравновешенного инертного (СУИ), сильного неуравновешенного (СН) и слабого (С) типов ВНД. Испытания условно-рефлекторной деятельности осуществляли непосредственно в помещении свинарника. Основой для экспериментов была выбрана двигательнo-пищевая методика образования условных рефлексов в виде двигательной реакции животного к месту подкормки [3]. Животным сложившихся типологических групп задавали с кормом водный раствор ЙК в рекомендуемой дозе 0,12 мг на 1 кг массы тела 2,0 раза в сутки в течение 40 дней. Кровь для исследований получали из яремной вены до начала скармливания ЙК и каждые 10 дней после него. Содержание общего белка в сыворотке крови определяли по биуретовой реакции полуавтоматическим биохимическим анализатором BioChem SA (США) с использованием реагентов фирмы High Technology (США), содержание гамма-глобулинов (γ -G) в сыворотке крови – турбидиметрическим (нефелометрическим) методом [4].

Результаты и их обсуждение

Установлено, что наибольшее содержание общего белка сыворотки крови до использования ЙК характерно для свиней СУП типа ВНД (табл. 1). Они достоверно превышали по этому показателю животных С типа на 9,1 % ($p < 0,05$).

Таблица 1. Содержание общего белка в сыворотке крови свиней разных типов высшей нервной деятельности при влиянии «Йодис-концентрата», г/л, $n = 4$

Группа животных	Срок исследования относительно начала скармливания «Йодис-концентрата»				
	до скармливания	после скармливания			
		через 10 сут.	через 20 сут.	через 30 сут.	через 40 сут.
СУП	77,90 ± 1,85	78,12 ± 1,54	77,20 ± 1,70	78,13 ± 1,47	79,90 ± 1,48
СУИ	73,48 ± 3,89	71,38 ± 5,59	71,93 ± 5,70	72,25 ± 5,25	78,05 ± 0,80
СН	74,62 ± 3,42	69,20 ± 2,24*	69,43 ± 2,54*	69,58 ± 2,20*	78,30 ± 1,70
С	70,85 ± 1,88*	70,15 ± 1,34**	67,35 ± 3,58*	68,45 ± 1,77**	76,13 ± 0,28*

* $P < 0,05$.

** $P < 0,01$ по сравнению с СУП типом ВНД.

Незначительная тенденция к повышенному содержанию общего белка в сыворотке крови отмечена у представителей СУП по сравнению с животными СУИ типа ВНД (на 5,7 %). Других различий между отдельными типологическими группами не замечено. Подобная картина сохранилась и в течение скармливания свиньям ЙК, хотя динамика содержания общего белка отличалась

у животных разных типологических групп. В частности, у свиней СУП типа ВНД изменений по сравнению с первоначальным показателем почти не было, за исключением тенденции к увеличению содержания общего белка на 2,6 % через 40 сут. скормливания ЙК. Представители других типов ВНД отличались тем, что в результате скормливания ЙК содержание общего белка в сыворотке крови снизилось через 10 сут. от начала опыта на 1,0–7,3 % по сравнению с начальными результатами и держалось на этом уровне до 30-х суток после начала дачи ЙК. На 40-е сутки содержание общего белка у этих животных возросло и больше всего у свиней С типа – на 7,5 % по сравнению с исходным уровнем ($P < 0,01$). Такая реакция на получение препарата йода стала причиной уменьшения на 10-е, 20-е и 30-е сутки опыта уровня общего белка в сыворотке крови соответственно: для свиней СУИ (на 8,6, 7,9, 7,5 %), СН (на 11,4, 10,1, 10,9 %; $P < 0,05$) и С (на 10,2 %, $P < 0,01$; 12,8 %, $P < 0,05$; 12,4 %, $P < 0,01$) типов по сравнению с СУП.

Через 40 сут. после начала получения ЙК свиньи со слабыми нервными процессами ответили на скормливание ЙК достоверным повышением уровня общего белка сыворотки крови на 7,5 % по сравнению с исходным состоянием. У животных других групп в течение опытного периода наблюдали только тенденции к большему или меньшему содержанию белка относительно начального показателя. Дисперсионный анализ данных опыта показал, что меньше подвергались воздействию ЙК животные с инертными корковыми процессами (табл. 2).

Таблица 2. Сила влияния «Йодис-концентрата» на содержание общего белка в сыворотке крови свиней разных типов нервной системы, η^2_x , $n = 4$

Группа животных	Срок исследования относительно начала скормливания «Йодис-концентрата»			
	через 10 сут.	через 20 сут.	через 30 сут.	через 40 сут.
СУП	0,19	0,10	0,16	0,55*
СУИ	0,05	0,03	0,04	0,46
СН	0,27	0,23	0,27	0,36
С	0,25	0,33	0,39	0,19

* $P < 0,05$.

Средний показатель этого воздействия за весь опытный период составил 0,15. В то же время представители СУП, СН и С типов имели примерно одинаковый средний показатель η^2_x – 0,25, 0,28, 0,29 соответственно. Впрочем, достоверным оказалось только влияние ЙК у свиней СУП типа ВНД (через 40 сут. после начала дачи препарата).

Безусловный интерес для понимания механизма воздействия ЙК на реактивность организма свиней различных типов ВНД представляют исследования содержания γ -Г в сыворотке крови, которые принимают непосредственное участие в иммунологических реакциях. Установлено, что при скормливании ЙК относительное содержание γ -Г сыворотки крови достоверно не отличалось у животных разных типов ВНД (табл. 3).

Таблица 3. Содержание гамма-глобулинов сыворотки крови свиней при скормливания «Йодис-концентрата», %

Группа животных	Срок исследования относительно начала скормливания «Йодис-концентрата»				
	до скормливания	после скормливания			
		через 10 сут.	через 20 сут.	через 30 сут.	через 40 сут.
СУП	23,25 ± 0,91	24,00 + 0,72	23,25 + 0,63	21,25 + 1,27	21,75 + 0,63
СУИ	22,50 ± 0,72	24,00 + 1,09	21,75 + 0,90	19,25 + 1,18	20,75 + 0,90
СН	21,75 ± 1,27	22,25 + 1,63	20,25 + 1,63	18,25 + 2,35	18,50 + 0,72*
С	21,50 + 0,72	21,25 + 0,90	21,50 + 1,27	21,00 + 1,09	21,50 + 1,27

* $P < 0,01$ по сравнению с СУП типом ВНД.

Обнаружена только тенденция к преобладанию по этому показателю животных СУП типа по отношению к другим и, особенно, С типа ВНД (на 1,8 %). Таким же образом на 2,3 % животные СВР типа превышали свиней СН типа ВНД. Динамика содержания γ -G у свиней отдельных типов ВНД (кроме С типа) характеризовалась отсутствием достоверных изменений на 10-е сутки после начала скормливания ЙК, дальнейшим снижением уровней гамма-глобулинов до 30-х суток и повышением на 40-е сутки исследования. Однако указанные изменения носили характер тенденции и только на 40-е сутки дачи ЙК у животных СН типа зарегистрирована достоверная разница с начальным показателем содержания γ -G на 3,5 %. Тогда же наблюдали достоверно более низкое содержание γ -G в сыворотке крови животных СН по сравнению со свиньями СУП типа ВНД на 3,25 % ($P < 0,01$). У свиней С типа ВНД этот показатель под влиянием ЙК не изменился. Заметим, что в период с 20-х по 40-е сутки скормливания ЙК представители СУП типа ВНД по относительному содержанию γ -G опережали своих сверстников СУИ и СН типов ВНД. Последние имели самый низкий уровень γ -G при воздействии ЙК. Подобные результаты получены при исследовании абсолютного содержания γ -G в сыворотке крови свиней. До применения ЙК наибольшее абсолютное содержание γ -G отмечено у СВР, а наименьшее – С типа ВНД. Животные этих двух групп отличались между собой на 13,2 % ($P < 0,05$). Через 10 сут. после начала скормливания ЙК абсолютное содержание γ -G выросло по сравнению с первоначальным показателем только в животных СУП типа ВНД на 5,6 % (тенденция) и на уровне тенденции было выше, чем у представителей СУИ, СН и С типов ВНД на 9,0, 11,6 и 16,7 % соответственно.

Снижение содержания γ -G у животных всех типологических групп, в особенности у свиней СН и С типов ВНД, на 10,0 и 11,3 % соответственно, наблюдали на 20-е сутки скормливания ЙК. Животные этих двух типов ВНД по абсолютному содержанию γ -G достоверно отставали от свиней СУП типа на 16,9 % ($P < 0,01$) и 25,5 % ($P < 0,05$) соответственно. Кроме того, отмечена тенденция к более высокому показателю у свиней СУИ по сравнению с С типом ВНД –

на 18,4 %. Через 30 сут. после начала дачи ЙК снижение абсолютного уровня γ -G продолжилось. В этот срок исследований свиньи СУП типа достоверно превышали животных СН типа на 20,3 % ($P < 0,05$), а также на уровне тенденции – представителей СУИ, С типов. На 40-е сутки отмечали повышение абсолютного содержания γ -G, а достоверная разница этого показателя была между представителями СУП и СН, С типов ВНД на 10,8 % ($P < 0,05$) и 23,5 % ($P < 0,05$) соответственно. Животные СУП также имели тенденцию к более высокому содержанию γ -G, чем свиньи СУИ типа ВНД – на 6,7 %. Достоверное уменьшение (на 16,1 %, $P < 0,05$) относительного содержания γ -G по сравнению с исходным показателем произошло вследствие скармливания ЙК только у свиней С типа ВНД на 40-е сутки опыта, а уменьшение абсолютного содержания γ -G по сравнению с начальным состоянием было отмечено только у свиней СН типа на 30-е сутки (на 20,1 %, $P < 0,05$) после начала скармливания ЙК. У животных других типологических групп изменения уровня γ -G носили характер тенденции.

Установлено, что сила воздействия ЙК на относительное содержание γ -G сыворотки крови наибольшей и достоверной была у свиней СУП ($\eta_x^2 = 0,54$, $P \leq 0,05$) и СУИ ($\eta_x^2 = 0,51$, $P \leq 0,05$) типов ВНД через 10 сут. после начала скармливания препарата. Далее, по мере скармливания ЙК, этот показатель снижался. Подобная картина замечена среди животных СН типа, однако на 10-е сутки влияние ЙК было на уровне тенденции ($\eta_x^2 = 0,45$). Скармливание ЙК свиньям С типа ВНД влияло на относительное содержание γ -G на уровне тенденции только через 30 сут. ($\eta_x^2 = 0,20$) и 40 сут. ($\eta_x^2 = 0,49$) после начала исследования. Применение ЙК поддерживало абсолютное содержание γ -G на уровне, близком к пределу достоверности, у свиней СУП типа через 10 и 20 сут. после начала скармливания препарата ($\eta_x^2 = 0,40$ и $\eta_x^2 = 0,34$ соответственно), у животных СН – на 30-е сутки ($\eta_x^2 = 0,33$) и С типа ВНД – на 30-е сутки ($\eta_x^2 = 0,35$) и 40-е сутки ($\eta_x^2 = 0,38$) после начала скармливания препарата. У свиней СУИ типа сила воздействия ЙК была близка к нулю.

Заключение

Наиболее слабо влиянию ЙК по содержанию общего белка подвергались животные с инертными корковыми процессами. Средний показатель этого воздействия за опытный период составил 0,15. Достоверное уменьшение (на 16,1 %, $P < 0,05$) относительного содержания гамма-глобулинов по сравнению с исходным показателем произошло вследствие скармливания ЙК только у свиней С типа ВНД на 40-е сутки опыта, а достоверное уменьшение абсолютного содержания их по сравнению с исходными показателями было отмечено только у свиней СН типа на 30-е сутки (на 20,1 %, $P < 0,05$) после начала скармливания ЙК. У животных других типологических групп изменения уровня гамма-глобулинов имели характер тенденции.

Литература

1. Денисова, С. И. Теоретические основы разведения китайского дубового шелкопряда в Беларуси / С. И. Денисова. – Минск : Технопринт, 2002. – 233 с.
2. Динаміка мінеральних компонентів листя кормових рослин в залежності від строку їх зберігання та фізіологічні показники дубового шовкопряда / В. О. Трокоз [та інш.] // Наук. вісн. Львівської нац. акад. вет. медицини ім. С. З. Гжицького. – 2006. – Т. 8, № 4 (31), ч. 2. – С. 198–204.
3. Імунологічна реактивність організму та її корекція у свиней залежно від типологічних особливостей нервової системи / А. В. Трокоз [та інш.] ; Нац. ун-т біоресурсів і природокористування України. – Київ : Експо-друк, 2016. – 140 с.
4. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии / И. П. Кондрахин [и др.] – М. : Агропромиздат, 1985. – 287 с.
5. Трокоз, В. О. Стимуляція фізіологічних процесів у організмі тварин біологічно активними речовинами різного походження : автореф. дис. ... д-ра с.-г. наук : 03.00.13 / В. О. Трокоз ; Львів. нац. ун-т вет. медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. – Львів, 2013. – 48 с.

Поступила 20.07.2017 г.

УДК 636.4:612.8

**А. В. Данчук, В. И. Карповский, В. О. Трокоз,
Р. В. Постой, Т. И. Приступа**

ВЗАИМОСВЯЗЬ И ВЛИЯНИЕ ОСНОВНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КОРКОВЫХ ПРОЦЕССОВ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ В ЭРИТРОЦИТАХ СВИНЕЙ

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
г. Киев, Украина*

Введение

Регуляция активности системы антиоксидантной защиты происходит нервно-гуморальным путем, механизм которого изучен недостаточно. Каталаза является одним из основных ферментов системы САЗ [1]. Она разлагает пероксид водорода, который образуется в процессе биологического окисления на воду и молекулярный кислород, а также окисляет при наличии пероксида водорода низкомолекулярные спирты и нитриты, и таким образом участвует в процессе клеточного дыхания [2].

Высшая нервная деятельность (ВНД) играет ведущую роль в адаптации организма к меняющимся условиям существования [3]. Технологические стрессы различной этиологии сопровождаются интенсификацией процессов свободнорадикального окисления липидов. Установлено, что у животных сильных типов ВНД образования и обезвреживания продуктов ПОЛ уравновешено,

зато у животных слабого типа ВНД низкая адаптационная способность и стрессоустойчивость [4].

Цель работы – исследовать влияние и взаимосвязи основных характеристик корковых процессов на активность каталазы в эритроцитах свиней.

Материалы и методы исследований

Для проведения данного эксперимента было подобрано 40 подсосных поросят крупной белой породы. До двухмесячного возраста поросята содержались под свиноматками в типовых помещениях. В 60-дневном возрасте проводили отлучения, вакцинацию против рожи и формировали группы на доращивание. В 90-дневном возрасте осуществляли ревакцинацию животных. На 180-е сутки исследований животных переводили в летний лагерь и проводили перераспределение групп. Силу, уравновешенность и подвижность нервных процессов у всех животных определяли по модифицированной методике, разработанной на кафедре физиологии, патофизиологии и иммунологии животных НУБиП Украины [5]. На основании анализа полученного материала было сформировано четыре группы, по 10 животных в каждой: I группа – сильный уравновешенный подвижный тип (СУП); II группа – сильный уравновешенный инертный тип (СУИ); III группа – сильный неуравновешенный тип ВНД (СН); IV группа – слабый тип высшей нервной деятельности (С). В 1-, 30-, 60-, 61-, 65-, 90-, 91-, 95-, 120-, 150-, 180-, 181-, 185- и 210-ти суточном возрасте у всех животных брали кровь. В гемолизате эритроцитов крови определяли активность каталазы по способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий цветной комплекс. Статистический анализ экспериментального материала проводили с использованием пакета анализа данных Microsoft Excel. Определяли среднее арифметическое и его погрешность, вероятность разницы параллельных массивов данных. Проводили корреляционный, однофакторный и многофакторный дисперсионный анализ.

Результаты и их обсуждение

Проведенными исследованиями установлено, что в период относительного покоя активность каталазы в гемолизатах эритроцитов свиней сильных типов ВНД не отличается (рис. 1), однако у животных слабого типа ВНД в течение всего периода исследований она была ниже таковой у животных сильных типов ВНД, хотя иногда находилась и в пределах тенденции.

Снижение активности фермента (на 8,0–18,0 %; $p \leq 0,05$ –0,001) при технологическом стрессе зависит от типологических особенностей ВНД и силы стрессора. Вследствие адаптации к изменившимся условиям существования в эритроцитах свиней сильных типов ВНД через 5 сут. проходит восстановление активности фермента, тогда как в эритроцитах свиней слабого типа за данный период активность каталазы достоверно не меняется.

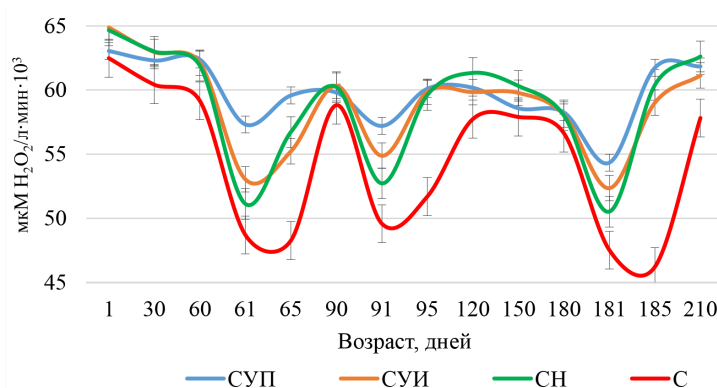


Рис. 1. Активность каталазы в эритроцитах свиней различных типов высшей нервной деятельности ($M \pm m$, $n = 5$, $\text{мкМН}_2\text{О}_2/\text{л} \cdot \text{мин} \cdot 10^3$)

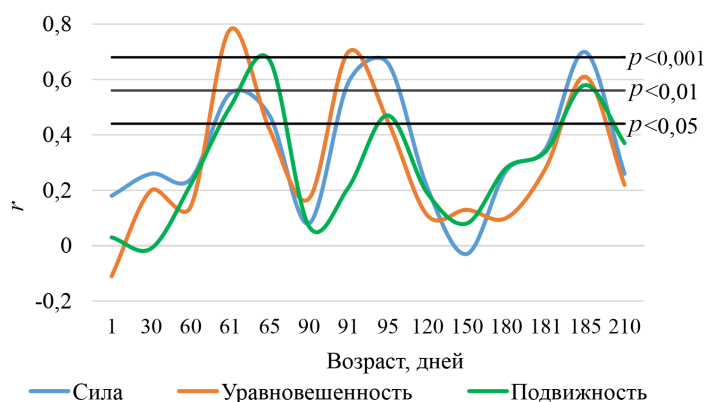


Рис. 2. Корреляционные связи основных характеристик корковых процессов с активностью каталазы в эритроцитах крови свиней (r ; $n = 20$)

Установлена взаимосвязь активности каталазы с основными характеристиками корковых процессов (рис. 2). Отъем поросят (60-е сут.) сопровождается становлением сильных прямых корреляционных связей силы ($r = 0,55$; $p < 0,01$), уравновешенности ($r = 0,78$; $p < 0,001$) и подвижности ($r = 0,50$; $p < 0,05$) корковых процессов с активностью каталазы, которые после адаптации животных исчезают. Следует отметить, что перевод животных в летний лагерь и перегруппировка свиней способствовали становлению достоверных корреляционных связей силы ($r = 0,70$; $p < 0,001$), уравновешенности ($r = 0,61$; $p < 0,01$) и подвижности ($r = 0,58$; $p < 0,01$) корковых процессов только через 5 сут. после действия стрессового фактора.

В приведенном многофакторном взаимодействии можно увидеть достоверные изменения активности каталазы в эритроцитах свиней, обусловленные физиологическим состоянием животных (период относительного покоя животных, состояние стресса и адаптации) или типологическими особенностями

высшей нервной деятельности (см. таблицу). Если не принимать во внимание физиологическое состояние животных, то можно утверждать, что между типом ВНД и активности каталазы в эритроцитах свиней существует существенная зависимость ($F = 13,31 > FU = 2,64$; $p < 0,001$). Интересно отметить, что данная зависимость в состоянии относительного покоя отсутствует ($F = 1,69 < FU = 2,68$; $p = 0,173$), а в период стресса усиливается ($F = 19,23 > FU = 2,66$; $p < 0,001$).

**Двухфакторный дисперсионный анализ активности каталазы
в эритроцитах крови свиней различных типов ВНД в зависимости
от возраста и физиологического состояния животных**

Источник вариации	SS	DF	MS	F	P-значение	F критическое
<i>Независимо от физического состояния</i>						
Тип ВНД	1167,9	3	389,3	13,31	5E-08	2,64
Возраст	3686,1	13	283,5	9,70	5,81E-16	1,76
Взаимосвязь	894,8	39	22,9	0,78	0,816	1,45
Внутренняя	6550,6	224	29,2	—	—	—
<i>Всего:</i>	12299,4	279	—	—	—	—
<i>В состоянии относительного спокойствия</i>						
Тип ВНД	165,8	3	55,26	1,69	0,173	2,68
Возраст	494,7	7	70,7	2,16	0,042	2,08
Взаимосвязь	45,5	21	2,2	0,07	1	1,64
Внутренняя	4189,4	128	32,7	—	—	—
<i>Всего:</i>	4895,4	159	—	—	—	—
<i>В период стресса и адаптации</i>						
Тип ВНД	1297,6	3	432,5	19,23	1,07E-10	2,66
Возраст	2232,2	9	248,0	11,03	2,77E-13	1,94
Взаимосвязь	669,9	27	24,8	1,10	0,342411	1,56
Внутренняя	3598,9	160	22,5	—	—	—
<i>Всего:</i>	7798,6	199	—	—	—	—

Возраст животных существенно влияет на активность каталазы в эритроцитах ($F = 9,7 > FU = 1,76$; $p < 0,001$), причем это влияние в состоянии относительного покоя незначительный ($F = 2,16 < FU = 2,08$; $p < 0,042$), а в период стресса и адаптации усиливается ($F = 1,03 > FU = 1,56$; $p < 0,001$).

Однофакторный дисперсионный анализ расширяет представление об особенностях влияния корковых процессов на активность каталазы (рис. 3).

Установлено, что основные характеристики корковых процессов оказывают достоверное влияние на активность каталазы в эритроцитах свиней только в период стресса и адаптации. Установлено достоверное влияние силы ($\eta^2 = 0,29$; $p < 0,01$), уравновешенности ($\eta^2 = 0,41$; $p < 0,001$) и подвижности ($\eta^2 = 0,45$; $p < 0,001$) корковых процессов на активность каталазы в эритроцитах свиней через сутки после отлучения. Зато после перевода животных в летний лагерь и перегруппировки (180-е сут.) установлено существенное влияние силы

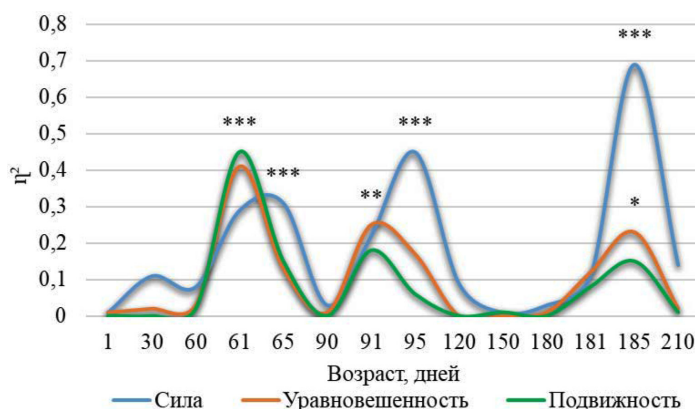


Рис. 3. Влияние основных свойств корковых процессов на активность каталазы в эритроцитах крови свиней (η^2 ; $n = 20$). Показатели достоверны при $*P < 0,05$; $**P < 0,01$; $***P < 0,001$

($\eta^2 = 0,69$; $p < 0,001$) и меньшее уравновешенности ($\eta^2 = 0,41$; $p < 0,001$), тогда как подвижность корковых процессов не оказывает существенного влияния на активность энзима.

Заключение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о достоверном влиянии основных характеристик корковых процессов на активность каталазы в эритроцитах свиней. Установлены достоверные корреляционные связи основных характеристик корковых процессов с активностью каталазы. С помощью дисперсионного анализа доказано, что активность каталазы существенно зависит от возраста, физиологического состояния и типологических особенностей корковых процессов.

Литература

1. Данчук, В. В. Оксидативний стрес – патологія чи адаптація? / В. В. Данчук, О. В. Данчук, Н. Л. Цепко // Тваринництво України. – 2004. – № 4. – С. 21–23.
2. Карповський, В. І. Типи вищої нервової діяльності великої рогатої худоби та характер адаптаційних реакцій на дію зовнішніх подразників : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 03.00.13, 16.00.02 / В. І. Карповський ; Нац. ун-т біоресурсів і природокористування України. – Київ, 2011. – 42 с.
3. Данчук, О. В. Активність ферментативної системи антиоксидантного захисту у еритроцитах свиней різних типів вищої нервової діяльності / О. В. Данчук // Міжвідом. темат. наук. зб. Ін-ту свинарства і АПВ НААН. – Вип. 67. – Полтава, 2015. – С. 149–152.
4. Кортико-вегетативні взаємини в регуляції фізіологічних функцій організму свиней / П. В. Карповський [та інш.] // Біологія тварин. – 2015. – Т. 17, № 2. – С. 65–73.
5. Спосіб визначення типів вищої нервової діяльності свиней : пат. на корисну модель № 70344 Україна : A01K 67/00, A61D 99/00. / В. О. Трокоз, В. І. Карповський; пат. на корисну модель № 78853 : A01K 67/00, A61D 99/00 / А. В. Трокоз, В. В. Пузир, А. П. Василів ; опубл. 11.06.2012. – Бюл. № 11.

Поступила 21.07.2017 г.

Н. А. Лобан

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ СВИНЕЙ К ЗАБОЛЕВАНИЮ КОЛИБАКТЕРИОЗОМ

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству», г. Жодино, Минская область, Беларусь

Введение

Колибактериоз – остро протекающее инфекционное заболевание молодняка животных, в частности поросят, сопровождающееся диареей, дегидратизацией тела и высокой летальностью. В настоящее время в ветеринарной практике одним из путей защиты поросят от неонатальной диареи, связанной с *E. coli*, является вакцинация свиноматок. Недостатки этого способа: высокая стоимость вакцин и мероприятий по вакцинации, невозможность получения высокой гарантии излечения животных. Возбудителем заболевания является кишечная палочка *E. coli*, которая продуцирует адгезивные антигены. Под адгезией понимают способность бактерий прикрепляться к чувствительным клеткам макроорганизма. Функцию адгезии несут субстанции, называемые адгезинами. Из специфических адгезинов при колибактериозе поросят наиболее важную роль играют F4 (K 88) и F18 [1, 5].

В качестве возможного генетического маркера, представляющего практический интерес для свиноводства, рассматривается ген рецептора *E. coli* F18 (ECR F-18). Установлено, что ген, кодирующий белок рецепторов кишечника свиней, имеющих сродство *E. coli* F18, тесно сцеплен с геном альфа-1-фукозилтрансферазы (FUT 1). Наличие точечной мутации гена FUT 1 A → G (в позиции 307) делает возможным проведение косвенной диагностики полиморфизма гена ECRF 18/FUT 1. Поросята, имеющие генотип GG или AG, предположительно являются восприимчивыми к колибактериозу, а с генотипом AA – устойчивыми. Выявление данной мутации сделало возможным проведение молекулярной генной диагностики полиморфизма гена ECR F 18 методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) [2]. Использование метода молекулярной генной диагностики позволяет проводить селекцию непосредственно на уровне ДНК, т. е. по генотипу (маркер-зависимая селекция) [3].

Цель исследований – изучить полиморфизм гена рецептора *E. coli* F18 и его влияние на заболевание колибактериозом, а также установить связи между аллельными вариантами гена и продуктивностью свиней.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в условиях племфермы РУСПП «Свинокомплекс Борисовский» Минской области на 47 хряках и 114 основных свиноматках белорусской крупной белой породы. Методом ПЦР-анализа определяли полиморфизм частоты встречаемости генотипов гена ECR F18.

Результаты и их обсуждение

Анализ результатов генетических тестов свиноматок позволил выявить частоту встречаемости аллелей генотипов А и G гена *ECR F18*. При анализе результатов исследований, проведенных на 197 гол. свиней, выяснилось, что частота встречаемости мутантного аллеля G у различных пород относительно высокая – 67,0–76,0 %. Распределение генотипов гена *ECR F18* в исследованных породах свиней показывает, что частота нежелательного генотипа GG варьировала от 50,0 % у свиней белорусской мясной породы до 63,8 % у породы ландрас (табл. 1).

Таблица 1. Частота встречаемости генотипов и аллелей гена *ECR F18* у свиней плановых пород в Республике Беларусь

Порода	n	Частота генотипов, %			Частота аллелей	
		AA	AG	GG	A	G
БКБ порода	69	7,3	39,1	53,6	0,27	0,73
БЧП порода	20	10,0	35,0	55,0	0,27	0,73
БМ (белорусская мясная)	30	16,0	34,0	50,0	0,33	0,67
ЭБ (эстонская беконная)	34	8,8	32,0	58,8	0,25	0,75
Ландрас	44	11,2	24,9	63,9	0,24	0,46

В условиях племенной РУСПП «Свинокомплекс Борисовский» установлена частота встречаемости генотипов гена *ECR F18* (табл. 2). Как у свиноматок, так и у хряков частоты встречаемости аллелей гена *ECR F18* были близки: А – 0,17–0,20; G – 0,80–0,83.

Таблица 2. Частота встречаемости генотипов и аллелей гена *ECR F18* у свиноматок белорусской крупной белой породы

Половозрастная группа	n	Частота генотипов, %			Частота аллелей	
		AA	AG	GG	A	G
Хряки основные	47	4,3	25,5	70,2	0,17	0,83
Свиноматки	114	3,5	32,0	64,0	0,20	0,80

Как у свиноматок, так и у хряков частоты встречаемости аллелей гена *ECR F18* были близки: А – 0,17–0,20; G – 0,80–0,83. Поскольку ранее было выявлено, что прослеживается четкая тенденция повышения сохранности поросят у свиноматок, несущих аллель А [4], в наших исследованиях в качестве критерия был выбран этот показатель. Это связано с тем, что из-за конкретных технологических условий точный диагноз на заболеваемость поросят колибактериозом был затруднен (табл. 3).

Анализ полученных данных показал, что значения сохранности поросят от матерей с генотипами AA и AG были выше на 5,5 ($P < 0,05$) и 2,7 % соответ-

ственно, чем у животных с генотипом GG. Достоверной разницы между показателями продуктивности свиноматок выявлено не было. В результате исследований установлено, что встречаемость заболеваний колибактериозом у потомства свиноматок с генотипом AA и AG в 1,98 и 1,6 раза ниже, чем у животных с генотипом GG.

Таблица 3. Влияние полиморфизма гена *ECR F18 FUT 1* на продуктивность свиноматок белорусской крупной белой породы

Генотип	Количество опоросов	Многоплодие, гол.	Молочность, кг	Отъем в 35 дней		Сохранность, %
				Поросят, гол.	Масса гнезда, кг	
AA	7	10,75 ± 1,11	52,50 ± 1,71	9,50 ± 0,65	73,25 ± 3,94	88,40 ± 2,20*
AG	76	11,77 ± 0,27	46,30 ± 0,88	10,08 ± 0,10	80,54 ± 1,25	85,60 ± 1,30
GG	136	11,40 ± 0,13	44,81 ± 0,98	9,45 ± 0,10	74,22 ± 1,51	82,90 ± 1,21

Примечание. Разница достоверна при **P* < 0,05.

Исследования влияния полиморфизма гена *FCR F18 FUT 1* на продуктивность свиноматок белорусской крупной белой породы в различных хозяйствах представлены в табл. 4. Установлено, что свиноматки с генотипами AA и AG превосходят по сохранности аналогов с генотипом GG на 5,5–14,8 % (*P* < 0,05; *P* < 0,01) и 1,0–8,7 % соответственно.

В процессе исследований разработан способ селекции по снижению заболеваемости поросят колибактериозом с использованием ПЦР–ПДРФ-анализа.

Таблица 4. Влияние полиморфизма гена *FCR F18 FUT 1* на продуктивность свиноматок белорусской крупной белой породы

Генотип	Количество свиноматок	Многоплодие, гол.	Отъем в 35 дней		Сохранность, %
			Поросят, гол.	Масса гнезда, кг	
ЗАО «Дражно» Витебской обл.					
AA	14	9,14 ± 0,42	9,1 ± 0,32*	84,1 ± 4,6	97,5 ± 2,23*
AG	36	9,08 ± 0,31	8,5 ± 0,30	83,7 ± 5,0	92,8 ± 2,65
GG	54	8,95 ± 0,24	8,2 ± 0,25	79,6 ± 4,1	91,8 ± 2,13
РУСПП «Свинокомплекс Борисовский» Минской обл.					
AA	7	10,75 ± 1,11	9,50 ± 0,65	73,25 ± 3,94	88,4 ± 2,2*
AG	76	11,77 ± 0,27	10,08 ± 0,10	80,54 ± 1,25	85,6 ± 1,30
GG	136	11,40 ± 0,13	9,45 ± 0,10	74,22 ± 1,51	82,9 ± 1,21
ООО Торговый дом «Ждановичи-Агро» Минской обл.					
AA	2	11,50 ± 0,50	10,0 ± 0,01	75,10 ± 0,02*	87,10 ± 3,80**
AG	39	10,62 ± 0,32	8,41 ± 0,23	65,00 ± 1,86	80,96 ± 2,59
GG	47	11,13 ± 0,30	7,91 ± 0,25	60,43 ± 1,89	72,30 ± 2,27

Примечание. Разница достоверна при **P* < 0,05; ***P* < 0,01.

Поскольку поросята наследуют от матери только половину генетического материала (одну из двух аллелей), представляет несомненный интерес изучение генотипа отцов, чтобы генотипы потомства были predeterminedены при отборе и подборе родительских пар. Рекомендуется проводить генетическое тестирование в период отбора ремонтного молодняка.

Исследование сочетаний генотипов матерей и отцов выявило четыре из девяти возможных комбинаций (табл. 5).

Таблица 5. Продуктивность свиноматок белорусской крупной белой породы в зависимости от подбора пар по гену *ECR F18 FUT 1*

Генотип (мать × отец)	n	Многоплодие, гол.	Молочность, кг	Отъем в 35 дней		Сохранность, %
				количество гол.	масса гнезда, кг	
GG × GG	27	11,52 ± 0,21	42,37 ± 1,56	9,41 ± 0,17	74,04 ± 2,10	81,7 ± 2,12
AG × AG	11	10,82 ± 0,23	48,55 ± 2,25	10,09 ± 0,25	80,73 ± 2,74	93,3 ± 2,85*
GG × AG	18	10,89 ± 0,25	47,67 ± 1,89	9,89 ± 0,21	81,61 ± 3,18	90,8 ± 3,22
AG × GG	27	11,44 ± 0,15	46,63 ± 1,41	10,15 ± 0,77	83,07 ± 2,27*	91,8 ± 2,34

Примечание. Разница достоверна при * $P < 0,01$.

В результате исследований установлено влияние генотипа отца на показатели продуктивности свиноматок крупной белой породы по гену *ECR F18 FUT1*. При наличии аллеля А в генотипе как матери, так и отца (AG × AG) сохранность поросят достоверно ($P < 0,01$) повышалась на 11,6 %, при наличии в геноме отца аллелей AG × GG и GG × AG сохранность поросят повышалась на 10,1 и 9,1 %, соответственно, по сравнению с потомством родителей, несущих в генотипе только аллель G. Из показателей продуктивности свиноматок можно выделить массу гнезда при отъеме, которая у животных, гомозиготных по аллелю А, была на 9,0–12,2 % выше, чем у родителей с генотипом GG.

Заключение

Установлено, что для снижения заболеваемости поросят колибактериозом следует проводить тестирование родителей методом ПЦР–ПДРФ на полиморфизм гена *FCR F18 FUT 1*, выявлять хряков и маток с генотипами AA и AG, проводить их подбор и использовать в воспроизводстве, исключая при этом из селекционного процесса родительские пары с сочетанием генотипов GG × GG и по возможности ограничивая сочетания AG × GG и GG × AG.

Разработан способ селекции по снижению заболевания поросят колибактериозом с использованием метода ПЦР–ПДРФ, который позволяет значительно повысить их сохранность (на 9,1–11,6 %; $P < 0,01$) и отъемную массу гнезда (на 9,1–12,5 %; $P < 0,01$).

Литература

1. Зиновьева, Н. А. Проблемы биотехнологии и селекции сельскохозяйственных животных / Н. А. Зиновьева, Л. К. Эрнст. – 2-е изд., доп. – М., 2005. – 329 с.
2. Коновалова, Е. Н. Исследование гена рецептора *E. coli* F18 во взаимосвязи с хозяйственно-полезными признаками / Е. Н. Коновалова, Е. А. Гладырь, Н. А. Зиновьева // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных : материалы Междунар. науч. конф. – Дубровицы, 2003. – С. 112–117.
3. Коновалова, Е. Н. Полиморфизм гена рецептора *E. coli* F18 (*ECR F18/FUT1*) и его влияние на хозяйственно полезные признаки свиней : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.23 / Е. Н. Коновалова. – Дубровицы, 2003. – 17 с.
4. Лобан, Н. А. Геномная селекция в свиноводстве / Н. А. Лобан, И. П. Шейко. – Жодино, 2013. – 272, [48] с.
5. Эрнст, Л. К. Биологические проблемы животноводства в XX веке / Л. К. Эрнст, Н. А. Зиновьева. – М. : РАСХН, 2008. – 508 с.

Поступила 20.07.2017 г.

УДК 636.4.082.2

Н. А. Лобан

ПРОФИЛАКТИКА СТРЕССА У СВИНЕЙ МЕТОДАМИ ГЕНОМНОЙ СЕЛЕКЦИИ

*РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству», г. Жодино, Минская обл., Беларусь*

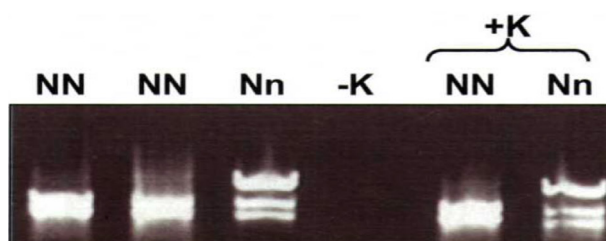
Введение

Примером использования молекулярной генной диагностики в селекции свиней является анализ полиморфизма гена рианодинового рецептора (RYR1). Под действием стресса у свиней развивается злокачественный гипертермический синдром (MHS). У чувствительных к стрессу свиней наблюдается чрезвычайно сильное снижение pH мяса на фоне высокой температуры тела (38–40 °C), что приводит к образованию так называемого PSE-мяса («Pale» – бледное, «Soft» – мягкое, «Exudative» – водянистое) [4].

Fujii и др. [5] было установлено, что чувствительность к злокачественной гипертермии у свиней вызывается точковой мутацией Ц→Т в позиции +1843 гена рианодинового рецептора *RYR1*, приводящей к аминокислотной замене Arg→Cys в позиции 615.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили во Всероссийском государственном научно-исследовательском институте животноводства. Был проведен анализ данных, позволяющий определить спектр генов – кандидатов локусов количественных признаков, оказывающих влияние на развитие признаков стресса. Геном –



ПЦР–ПДРФ анализ свиней по вариантам гена *RYR1*

кандидатом чувствительности к стрессам, был выявлен рианодиновый рецептор – *RYR1* (см. рисунок). Затем для этого гена были разработаны тест-системы для анализа их аллельного полиморфизма, основанные на методе ПЦР–ПДРФ-анализа, и выполнены популяционно-генетические исследования с установлением частоты встречаемости аллелей [1, 2]. Были протестированы свиньи восьми пород, разводимых в Республике Беларусь, и их помеси в 20 племенных и промышленных свиноводческих предприятиях.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенного теста на полиморфизм рианодинового гена-рецептора *RYR1* установлены колебания частоты генотипов и аллелей в зависимости от породной принадлежности и половозрастных групп животных.

Стрессоустойчивость изучали на основных хряках, ремонтных хряках и свинках и откормочном поголовье на контрольном откорме. Установлено отсутствие животных с гомозиготным генотипом – nn. Наиболее высокий процент особей, несущих мутантный аллель *RYR1*ⁿ и имеющих чувствительность к стрессам, генотипа *RYR1*^{Nn} отмечен у породы пьетрен (50,0 %), среднее значение наблюдалось у помесей (16,35 %) и минимальное – у белорусской крупной белой породы (2,99 %). Следует отметить отсутствие животных с генотипом *RYR1*ⁿⁿ у свиней породы йоркшир.

Частоты генотипов и аллелей гена *RYR1* по половозрастным группам у животных белорусской крупной белой породы представлены в табл. 1.

Таблица 1. Частота аллелей и генотипов рианодинового гена-рецептора у свиней белорусской крупной белой породы по половозрастным группам

Группа свиней	Голов	Частота генотипов, %			Частота аллелей		Генетическое равновесие χ^2
		NN	Nn	nn	N	n	
Хряки	283	96,82	3,18	–	0,984	0,016	0,073
Свиноматки	120	97,30	2,70	–	0,986	0,014	0,080
Молодняк	116	97,40	2,60	–	0,987	0,013	0,071
В среднем:	619	97,01	2,99	–	0,986	0,014	0,070

Генетическое исследование полиморфизма гена *RYR1* у хряков белорусской крупной белой породы проведено нами в селекционно-гибридных центрах (СГЦ) «Заречье» и «Заднепровский» (табл. 2). Установлено отсутствие животных с рецессивным гомозиготным генотипом $RYR1^{nn}$, частота встречаемости хряков гетерозиготных генотипов $RYR1^{Nn}$ составила 16,7 %. Следует отметить, что стрессоустойчивые животные характеризуются более высокими репродуктивными качествами в сравнении с чувствительными и предрасположенными к стрессу. Достаточно высокий процент наличия животных с гетерозиготным генотипом $RYR1^{Nn}$ в исследуемых популяциях белорусской крупной белой породы с учетом масштабов промышленного производства приводит к значительному экономическому ущербу.

Таблица 2. Показатели воспроизводительных качеств хряков белорусской крупной белой породы в ассоциации с их полиморфизмом по гену *RYR1*

Продуктивный признак	Генотип хряков по гену <i>RYR1</i>		
	NN	Nn	отклонения, +, –NN к Nn
Количество животных, гол.	35	7	–
Эффективность случек, %	82,80 ± 2,51	74,60 ± 3,67	+8,2*
Количество опоросов	785	127	–
Многоплодие, гол.	11,90 ± 0,15	11,10 ± 0,26	+0,8*
Количество живых поросят, гол.	11,30 ± 0,12	9,80 ± 0,23	+1,5***
Крупноплодность, кг	1,44 ± 0,06	1,29 ± 0,12	+0,15*
Масса гнезда при опоросе, кг	16,30 ± 0,35	14,30 ± 0,79	+2,0**
Молочность свиноматок, кг	52,90 ± 0,61	43,80 ± 2,53	+9,1*
Количество отъемных поросят, гол.	10,70 ± 0,17	7,80 ± 0,36	+2,9***
Масса гнезда в 2 мес., кг	185,40 ± 2,31	127,60 ± 5,73	+57,8***
Масса 1 поросенка в 2 мес., кг	17,30 ± 0,23	16,30 ± 1,45	+1,0*
Сохранность поросят, %	89,90 ± 1,20	70,20 ± 2,40**	+19,7***

Примечание. Разница отклонения достоверна при * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Продуктивность свиноматок БКБ породы в ассоциации с их различными генотипами по гену *RYR1* (табл. 3) показал, что животные с генотипом- $RYR1^{NN}$ имели преимущество над аналогами $RYR1^{Nn}$ по многоплодию – на 1,28 поросенка ($P \leq 0,05$), количеству жизнеспособных и отнятых поросят – на 1,89–2,58 головы ($P \leq 0,05$).

У маток, устойчивых к стрессу, рождались более крупные жизнеспособные поросята и масса гнезда при рождении была выше на 1,77 кг ($P \leq 0,05$). Аналогично отмечалось повышение энергии роста поросят и, соответственно, превышение показателей молочности и отъемной массы гнезда на 16,26–39,74 кг ($P \leq 0,001$). Матки белорусской крупной белой породы с генотипом $RYR1^{NN}$ имели сохранность поросят на 25,5 п. п. выше, чем у их гетерозиготных аналогов $RYR1^{Nn}$ ($P \leq 0,01$).

Таблица 3. Показатели репродуктивных качеств свиноматок БКБ породы с различными генотипами по гену *RYR1*

Признак	Генотип RYR		Разница, +,-NN к Nn
	NN	Nn	
Родилось поросят, гол.:			
всего	12,87 ± 0,24	11,50 ± 1,90	+1,28*
живых	12,39 ± 0,23	10,50 ± 0,50	+1,89*
Масса гнезда при рождении, кг	16,32 ± 0,32	14,55 ± 1,05	+1,77*
Количество поросят в 21-й день, гол.	10,01 ± 0,09	7,50 ± 0,50	+2,51**
Молочность, кг	62,78 ± 0,73	46,50 ± 1,50	+16,28**
Количество поросят при отъеме, гол.	10,08 ± 0,28	7,50 ± 0,50	+2,58**
Масса гнезда в 2 мес., кг	187,70 ± 3,60	147,96 ± 2,10	+39,74**
Сохранность поросят, %	81,4	55,6	+25,8
Мертворожденных поросят, %	3,8	9,5	-5,7 (в 2,5 раза)
Аварийных опоросов, %	13,2	28,6	-15,4 (в 2,2 раза)

П р и м е ч а н и е. Разница с показателями генотипа RYR1^{Nn} достоверна при * $P < 0,05$; ** $P < 0,001$.

По количеству мертворожденных поросят и проценту аварийных опоросов различие составляло 5,7 п. п. (2,5 раза) и 15,4 п. п. (2,2 раза) соответственно.

При изучении влияния полиморфизма гена *RYR1* на показатели откормочной и мясной продуктивности чистопородного молодняка белорусской крупной белой породы и помесей в условиях КИСС СГЦ «Заднепровский» установлено превосходство стрессоустойчивого молодняка БКБ породы и двухпородных помесей (БКБ × БМ; БКБ × Л; БКБ × БЧ) с генотипом RYR1^{NN} по среднесуточным приростам на 12–57 г, или 1,7–7,7 % ($P \leq 0,05$), в сравнении с молодняком генотипа RYR1^{Nn} (табл. 4).

Таблица 4. Влияние полиморфизма гена *RYR1* на показатели откормочной и мясной продуктивности молодняка БКБ породы

Номер группы	Породность	Генотип по RYR1	Гол.	С/с прирост, г	Затраты корма, к. ед.	Длина туши, см	Толщина шпика, мм	Масса окорока, кг
1	БКБ	NN	18	712 ± 11,64	3,61 ± 0,06	96,2 ± 0,27	28,2 ± 1,05	10,50 ± 0,22
2		Nn	7	701 ± 9,77	3,60 ± 0,03	95,9 ± 0,21	28,4 ± 0,88	10,60 ± 0,16
3	БКБ×БМ	NN	11	733 ± 1,60***	3,53 ± 0,05**	98,7 ± 0,57	27,4 ± 0,50	11,10 ± 0,14
4		Nn	5	676 ± 0,71	3,72 ± 0,01	98,1 ± 0,10	27,4 ± 1,10	11,05 ± 0,15
5	БКБ×Л	NN	10	761 ± 13,91*	3,36 ± 0,02**	98,3 ± 0,13	25,3 ± 1,17	11,00 ± 0,38
6		Nn	4	710 ± 12,82	3,57 ± 0,05	98,0 ± 0,25	26,6 ± 0,88	11,00 ± 0,13
7	БКБ×БЧ	NN	14	720 ± 8,97	3,51 ± 0,05	96,9 ± 0,49	27,5 ± 0,45	10,60 ± 0,09
8		Nn	6	699 ± 26,00	3,61 ± 0,11	96,8 ± 0,40	26,2 ± 1,60	10,50 ± 0,17

П р и м е ч а н и е. Достоверность разницы дана относительно генотипа NN: * $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$.

Наиболее существенная разница по среднесуточным приростам на 57 г, или на 7,7 %, установлена у помесного молодняка БКБ × БМ генотипа RYR1^{NN} ($P \leq 0,001$). Аналогично и конверсия корма была достоверно лучше у помесей БКБ × БМ и БКБ × Л с генотипом RYR1^{NN} – на 0,21 и 0,19 к. ед. ($P \leq 0,01$) соответственно. Относительно мясных качеств достоверных отличий не было, однако отмечалась устойчивая тенденция их повышения у животных всех групп с генотипом RYR1^{NN}.

Заключение

1. Точковая мутация в гене RYR1ⁿ негативно влияет на откормочную и мясную продуктивность свиней, снижая прибыль на 15,0–30,0 %, по причине увеличения затрат корма на 1 кг прироста живой массы и снижения качества свинины.

2. Метод оценки стрессоустойчивости свиней по тесту на рианодинный рецептор является наиболее точным и современным, так как учитывается селекционно-генетический фактор наследуемости признака.

3. Для устранения негативного влияния фактора стресса необходимо тестирование всей активной популяции свиней с выбраковкой стрессочувствительных хряков. К свиноматкам – носителям мутации необходимо подбирать стрессоустойчивых хряков, что позволит получать здоровый молодняк [3].

Литература

1. Введение в молекулярную генную диагностику сельскохозяйственных животных / Н. А. Зиновьева [и др.] ; ВИЖ. – Дубровицы, 2002. – 112 с.
2. Исследование полиморфизма гена эстрогенового рецептора как маркера плодовитости свиней / Н. А. Зиновьева [и др.] // Свиноводство : материалы Междунар. науч. конф. – Дубровицы, 2000. – Т. 2. – С. 50–57.
3. Молекулярная генная диагностика в свиноводстве Беларуси / Н. А. Лобан [и др.]. – Подольск : ВИЖ, 2005. – 42 с.
4. Эрнст, Л. К. Биологические проблемы животноводства в XXI веке / Л. К. Эрнст, Н. А. Зиновьева. – М. : РАСХН, 2008. – 501 с.
5. Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia / J. Fujii [et al.] // Science. – 1991. – Vol. 253. – P. 448–451.

Поступила 20.07.2017 г.

В. О. Рудь, Л. А. Тарасенко

ПРОФИЛАКТИКА СТРЕССА У ПОРОСЯТ

Одесский государственный аграрный университет, г. Одесса, Украина

Введение

Процесс перехода от внутриутробного развития к постнатальному по глубине воздействия относят к стрессу. Такая же стрессовая ситуация в организме новорожденных поросят возникает во время отъема их от свиноматок. Взвешивание и перемещение молодняка, объединение их в новые группы, изменение режима кормления и состав корма негативно влияют на физиологическое состояние организма. Стресс, который возникает при отъеме, приводит к снижению скорости роста и резистентности организма, поэтому поиск средств корректировки адаптационного процесса животных – вопрос актуальный и требует изучения [1–5].

Материалы и методы исследований

Материалом для проведения исследований служили кровь и сыворотка поросят свинофермы ТОВ «АВАНГАРД-Д» Овидиопольского района Одесской области. Пробы крови для исследований у поросят отбирали в утренние часы из хвостовой артерии. Гематологические и биохимические исследования проводили в условиях кафедры ветеринарной гигиены, санитарии и экспертизы Одесского ГАУ, Украинского научно-исследовательского института медицины транспорта. Для оценки процессов свободнорадикального (перекисного) окисления липидов (ПОЛ) и состояния системы антиоксидантной защиты (АОЗ) организма свиней в сыворотке их крови определяли содержание диеновых конъюгатов и кетодиенов (В. Ушкалова с соавт., 1987) [7], малонового диальдегида (В. М. Коробейникова, 1989), витамина А – по Бессею в модификации А. А. Анисовой, витаминов Е и С – в реакции с α, α -дипиридилем; активность церулоплазмينا (ЦП) – экспресс-методом по Е. В. Тэну (1981) [6].

Для проведения исследований были сформированы четыре группы поросят-сосунов по 30 голов в каждой. Животные 1-й (контрольной) группы «Смесь кормовую Сто Га» не получали. Поросята 2-й группы 5–40-суточного возраста получали «Смесь кормовую Сто Га» по 25 мг/кг живого веса на одну голову в сутки. Животные 3-й группы в те же сроки получали «Смесь кормовую Сто Га» в дозе 35 мг/кг. Поросята 4-й группы были получены от свиноматок, получавших «Смесь кормовую Сто Га» в течение 20-ти дней до и 20-ти дней после опороса. Поросятам этой группы скармливали «Смесь кормовую Сто Га» (с 5 до 40-суточного возраста по 25 мг/кг живого веса на одну голову в сутки).

«Смесь кормовая Сто Га» ТУ У 10.9-518864-001.2017 состоит из гуминовых кислот, полученных при обработке низинного торфа, в 1 см³ препарата содержится активная фракция гуминовых кислот от 7,0 до 9,0 мг. Производитель «Смеси кормовой Сто Га» – МП «МИЗ» (г. Одесса, Украина).

Результаты и их обсуждение

Показатели ПОЛ у поросят-сосунов и молодняка свиней представлены в таблице.

Показатели ПОЛ у поросят-сосунов и молодняка свиней после отъема на фоне применения «Смеси кормовой Сто Га» ($M \pm m$; $n = 5$)

Показатель	Группа поросят	Срок исследований (возраст поросят, сут.)			
		1-й опытный период (4)	2-й опытный период (16)	3-й опытный период (28)	4-й опытный период (40)
Диеновые конъюгаты, ед. опт. пл/мг липидов	1-я (контроль)	0,204 ± 0,015	0,190 ± 0,010	0,183 ± 0,012	0,219 ± 0,022
	2-я	0,207 ± 0,012	0,174 ± 0,015	0,165 ± 0,009	0,192 ± 0,011
	3-я	0,205 ± 0,016	0,182 ± 0,013	0,173 ± 0,010	0,206 ± 0,018
	4-я	0,197 ± 0,014	0,169 ± 0,011	0,164 ± 0,008	0,194 ± 0,013
Кетодиены, ед. опт. пл/мг липидов	1-я (контроль)	0,093 ± 0,005	0,086 ± 0,003	0,069 ± 0,005	0,087 ± 0,003
	2-я	0,095 ± 0,003	0,078 ± 0,006	0,058 ± 0,003	0,072 ± 0,004*
	3-я	0,093 ± 0,003	0,081 ± 0,005	0,064 ± 0,002	0,079 ± 0,006
	4-я	0,090 ± 0,004	0,075 ± 0,003	0,060 ± 0,006	0,074 ± 0,002*
Малоновый диальдегид, мкмоль/л	1-я (контроль)	1,140 ± 0,051	0,630 ± 0,030	0,480 ± 0,023	0,780 ± 0,021
	2-я	1,160 ± 0,043	0,540 ± 0,042	0,400 ± 0,020*	0,640 ± 0,041*
	3-я	1,150 ± 0,047	0,580 ± 0,035	0,440 ± 0,026	0,700 ± 0,046
	4-я	1,110 ± 0,035	0,530 ± 0,023*	0,410 ± 0,040	0,660 ± 0,035*

Примечание: * $p < 0,05$ – достоверность разницы по отношению к показателям 1-й (контрольной) группы.

Экспериментально было установлено, что уровень диеновых конъюгатов, кетодиенов и малонового диальдегида в сыворотке крови поросят опытных групп 4-суточного возраста практически не отличался от показателей контрольной группы.

В последующие периоды исследований уровень продуктов ПОЛ у поросят опытных групп был ниже, чем в контроле. При этом содержание диеновых конъюгатов в сыворотке крови животных 2-й группы был ниже по сравнению с контрольной на 8,4–12,3 %. Разница между показателями 3-й группы и контролем варьировала в пределах 4,2–5,9 %, 4-й группы и контролем – в пределах 11,0–11,4 %.

Установлено, что содержание кетодиенов у поросят 2-й, 3-й, 4-й групп в 16-суточном возрасте было ниже на 9,3, 5,8, 12,7 % по сравнению с поросятами 1-й группы, в 28-суточном возрасте – на 15,9, 7,2, 13,0 %, а в 40-суточном возрасте на 17,2 ($P < 0,05$), 9,2, 14,9 % ($P < 0,05$) соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют, что содержание вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида, в сыворотке крови поросят опытных групп, начиная с 16-суточного возраста, было ниже по сравнению с контролем. Максимально низкий уровень МДА был у поросят 4-й группы. Разница составила 15,9 % и была статистически достоверной ($P < 0,05$), что свидетельствует об эффективных антистрессогенных свойствах используемой смеси. В 28-суточном возрасте самая низкая концентрация МДА отмечалась в сыворотке крови поросят 2-й группы, разница между показателями 2-й и 1-й контрольной группы составила 20,0 % и была статистически достоверной ($P < 0,05$). Концентрация МДА в сыворотке крови поросят 2-й, 3-й, 4-й групп в 40-суточном возрасте (10-е сутки после отъема) была ниже на 17,9 ($P < 0,05$) 10,3, 15,4 % ($P < 0,05$) по сравнению с 1-й контрольной группой.

Показатели системы АОЗ у поросят-сосунов и молодняка свиней после отъема свидетельствуют, что у поросят 4-й группы в 16-суточном возрасте активность ЦП была выше, чем в контроле на 12,5 %.

В 28-суточном возрасте активность ЦП у животных 2-й, 3-й, 4-й групп превышала показатели поросят 1-й контрольной группы на 10,3, 6,7, 11,3 %. В 40-дневном возрасте на фоне общего для животных всех групп снижения активности ЦП у поросят, получавших «Смесь кормовую Сто Га», и которые были получены от свиноматок, получавших «Смесь кормовую Сто Га», она была выше, чем в контроле. Разница между показателями животных 2-й и 1-й контрольной группы составляла 17,3 % ($P < 0,05$), 3-й и 1-й контрольной группы – 8,0 %, 4-й и 1-й контрольной группы – 13,6 % ($P < 0,05$).

Полученные результаты исследований показали, что содержание витамина А в сыворотке крови поросят 4-й группы первого периода опыта было выше на 14,9 % по сравнению с поросятами 1-й контрольной группы. В последующие периоды исследований (16-е, 28-е, 40-е сут.) уровень данного витамина-антиоксиданта у поросят 4-й группы был достоверно ($P < 0,05$) выше (на 31,5, 26,3, 29,2 %) по сравнению с 1-й контрольной группой.

Уровень витамина А в сыворотке крови животных 16-суточного возраста 2-й и 3-й групп, был выше по сравнению с контролем на 22,0 ($P < 0,05$) и 14,8 %, на 28-е сутки – на 22,8 и 19,3 %, на 40-е сутки – на 35,4 ($P < 0,05$) и 22,9 % ($P < 0,05$) соответственно.

Содержание витамина Е в сыворотке крови поросят опытных групп 4-суточного возраста варьировало в пределах $8,77 \pm 0,187$ – $9,03 \pm 0,310$ мкмоль/л. В последующие периоды исследований уровень указанного витамина у животных всех опытных групп был выше поросят 1-й контрольной группы. В 16-суточном возрасте разница между показателями животных 2-й и 1-й контрольной группы составила 3,8 %, 3-й и 1-й контрольной группы – 2,4 %, 4-й и 1-й контрольной группы – 7,0 % ($P < 0,05$). На 28-е сутки уровень витамина Е в сыворотке крови поросят 2-й, 3-й, 4-й групп был выше поросят 1-й контрольной группы на 6,8, 3,5, 6,6 %, в 40-суточном возрасте поросята 2-й и 4-й групп достоверно

($P < 0,05$) превышали поросят 1-й контрольной группы на 7,9 и 7,5 % соответственно.

Исследованиями установлено, что содержание витамина С в сыворотке крови 4-суточных поросят всех групп был практически одинаковым. Концентрация указанного витамина-антиоксиданта у животных 16-суточного возраста, получавших «Смесь кормовую Сто Га», была выше на 6,41, 3,1, 10,21 %, в 28-суточном возрасте – на 9,5, 4,8, 8,3 %, в 40-суточном возрасте на – 10,7, 5,8, 9,65 % по сравнению с поросятами 1-й контрольной группы.

Выводы

1. Применение «Смеси кормовой Сто Га» повлияло на уровень продуктов ПОЛ у поросят опытных групп:

- содержание диеновых конъюгатов в сыворотке крови животных 2-й группы было ниже по сравнению с 1-й контрольной группой на 8,4–12,3 %. Разница между показателями животных 4-й группы и контролем находилась в пределах 11,0–11,4 %;

- содержание кетодиенов у поросят 2-й, 3-й, 4-й групп в 16-суточном возрасте было ниже на 9,3, 5,8, 12,7 % по сравнению с поросятами 1-й контрольной группы, в 28-суточном возрасте – на 15,9, 7,2, 13,0 %, а в 40-суточном возрасте – на 17,2 ($P < 0,05$), 9,2, 14,9 % ($P < 0,05$) соответственно;

- содержание вторичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида, в сыворотке крови поросят опытных групп, начиная с 16-суточного возраста, было ниже по сравнению с контролем. Максимально низкий уровень МДА был у поросят 4-й группы. Разница составила 15,9 % и была статистически достоверной ($P < 0,05$).

2. Показатели системы АОЗ у поросят-сосунов и молодняка свиней после отъема свидетельствуют о том, что:

- у поросят 4-й группы в 16-суточном возрасте активность церуллоплазмина была выше на 12,5 %, чем в контроле;

- в 40-суточном возрасте активность ЦП у поросят опытных групп была выше, чем в контроле. Разница между показателями животных 2-й и 1-й контрольной группы составила – 17,3 % ($P < 0,05$), 3-й и 1-й контрольной группы – 8,0 %, 4-й и 1-й контрольной группы – 13,6 % ($P < 0,05$).

3. Установлено, что содержание витамина А в сыворотке крови поросят 4-й группы первого периода опыта было выше на 14,9 % по сравнению с поросятами 1-й контрольной группы. В последующие периоды исследований (16-е, 28-е, 40-е сут.) уровень данного витамина-антиоксиданта у поросят 4-й группы был достоверно ($P < 0,05$) выше – на 31,5, 26,3, 29,2 % по сравнению с контрольной группой.

4. Разница между показателями содержания витамина Е и С в сыворотке крови поросят 16-суточного возраста 2-й и 1-й контрольной группы составляла

3,8 и 6,41 %, 3-й и 1-й контрольной группы – 2,4 и 3,1 %, 4-й и 1-й контрольной группы – 7,0 и 10,21 % соответственно ($P < 0,05$), в 40-суточном возрасте поросята 2-й и 4-й групп достоверно ($P < 0,05$) превосходили поросят 1-й контрольной группы на 7,9–10,7 и 7,5–9,7 % соответственно.

Литература

1. Галочкин, В. А. Разработка теоретических основ и создание антистрессовых препаратов нового поколения для животноводства / В. А. Галочкин, В. П. Галочкина, К. С. Остренко // Сельскохозяйственная биология. – 2009. – № 2. – С. 43–54.
2. Рецкий, М. И. Система антиоксидантной защиты у животных при стрессе и его фармакологической регуляции : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.04 / Рецкий Михаил Исаакович. – Воронеж, 1997. – 52 с.
3. Самсонов, О. В. Разработка методов профилактики послеотъемного стресса у поросят : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.01, 16.00.02 / Самсонов Олег Владимирович. – М., 1995. – 16 с.
4. Барабой, В. А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы / В. А. Барабой. – Киев : Фитосоцицентр, 2006. – 424 с.
5. Чумаченко, В. В. Біохімічні та імунологічні основи системи профілактики стресу в свиней : автореф. дис. д-ра вет. наук : 03.00.04 / Чумаченко Володимир Володимирович. Київ, 2007. – 24 с.
6. Ушкалова, В. Н. Комплексный анализ липидов крови спектрофотометрическим, флуориметрическим и кинетическими методами / В. Н. Ушкалова, Н. В. Ионидис, З. М. Деева // Лабораторное дело. – 1987. – № 6. – С. 446–460.
7. Тэн, Э. В. Экспресс-метод определения активности церулоплазмينا в сыворотке крови / Э. В. Тэн // Лабораторное дело. – 1981. – № 6. – С. 334–335.

Поступила 02.07.2017 г.

УДК 619:616.98:616.6:636.4

М. А. Ананчиков, О. Н. Новикова, Д. Л. Белянко, С. В. Дадашко

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЧИ СВИНОМАТОК ПРИ ИНФЕКЦИЯХ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С. Н. Вышелесского»,
г. Минск, Беларусь*

Введение

Свиноводство Республики Беларусь является одной из основных отраслей сельскохозяйственного производства, ориентированной на экспорт своей продукции в страны СНГ. Обеспечение благополучия стада по инфекционным заболеваниям – одна из главных задач эффективного выращивания свиней. При анализе структуры инфекционной патологии свиней обращает на себя внимание лидирующее положение инфекционных болезней, возбудителями

которых являются условно-патогенные микроорганизмы [1, 3]. Значительное число болезней, регистрируемых в ветеринарной отчетности в виде незаразных, на практике характеризуются стационарностью и энзоотическим проявлением. К таким болезням, вероятно, можно отнести и инфекции мочевыводящих путей (ИМП) у свиней.

По наблюдениям российских исследователей [2], инфекции мочевыводящих путей у свиноматок встречаются у 10,0–19,8 % обследованных животных. В связи с болезнями мочевыводящих путей в репродуктивных свиноводческих хозяйствах ежегодно выбраковывают около 11,0–12,0 % маточного поголовья [4], что сокращает срок хозяйственного использования свиноматок в среднем на 2–3 года. Инфекции мочевыводящих путей у свиноматок старше одного года рассматривают как основную причину их падежа.

К факторам риска относят возраст свиноматок, недостаточную обеспеченность их качественной питьевой водой и содержание в грязных станках, отсутствие послеродовой профилактики, малоподвижный образ жизни супоросных маток (содержание в индивидуальных станках), а также их кондиции. Истинной причиной возникновения ИМП являются патогенные виды микроорганизмов: *Actinobaculum suis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., реже встречаются *Staphylococcus hyicus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus* spp. и др. *A. suis* относят к специфическим возбудителям ИМП, он часто является причиной развития пиелонефрита и последующего падежа свиноматок. Присутствие *E. coli* может привести к развитию воспалительных процессов в слизистой мочевого пузыря. При этом клинически болезнь может никак не выражаться. В механизм воспаления, запущенный *E. coli*, вовлекаются другие микроорганизмы – стрептококки и *A. suis*. В этом случае воспаление охватывает всю поверхность слизистой мочевого пузыря и возможно наблюдать восходящую инфекцию, в результате которой поражаются почки.

Цель исследований – изучить физико-химические показатели мочи свиноматок при инфекциях мочевыводящих путей, вызываемых неспецифическими возбудителями.

Материалы и методы исследований

На свиноводческих предприятиях клинически обследовали маточное поголовье. При подозрении на инфекции мочевыводящих путей у свиноматок брали пробы мочи для определения степени бактериурии методом секторных посевов по следующим показателям:

- бактериурия не более 10^3 КОЕ/мл – отсутствие воспалительного процесса;
- бактериурия в пределах 10^3 – 10^5 КОЕ/мл – сомнительный результат;
- бактериурия 10^5 и более КОЕ/мл мочи – воспалительный процесс в мочеполовой системе.

Для определения степени бактериурии и видового состава микроорганизмов также отбирали пробы мочи непосредственно из мочевого пузыря

в стерильную стеклянную посуду при забое свиноматок на убойных площадках. Видовой состав микроорганизмов мочи определяли с использованием биохимического анализатора Vitek Compact 2.

Для оценки физико-химических показателей мочи отбирали пробы при естественном акте мочеиспускания в объеме 200–250 мл (среднюю порцию). Непосредственно после отбора проб определяли цвет, прозрачность, консистенцию и запах мочи. Реакцию мочи определяли с помощью pH-метра. Пробу мочи помещали в пробирку и исследовали визуально при дневном освещении. Мутная моча интенсивно желтого цвета или с красным оттенком, красно-коричневого цвета, а также нехарактерные для мочи запахи (аммиака) могут свидетельствовать о наличии воспалительного процесса в мочевыводящих путях. Общий белок в моче исследовали с использованием биохимического анализатора «DIALAB autolyzer 200 10D». Микроскопическое исследование препаратов проводили с осадком, полученным при центрифугировании порции мочи. В центрифужную пробирку после тщательного перемешивания полученной пробы помещали 10,0 мл мочи и центрифугировали 5 мин при 2000 об/мин. Надосадочную жидкость сливали, осадок наносили на предметное стекло, накрывали покровным стеклышком и изучали под малым (8 × 10) и большим (10 × 40) увеличением микроскопа. При этом определяли наличие в осадке форменных элементов крови (эритроцитов, лейкоцитов).

Результаты и их обсуждение

При эпизоотологическом обследовании свиноводческих комплексов установлено, что погрешности в кормлении и нарушение зоогигиенических норм содержания свиней, а также технологические ошибки при организации профилактических мероприятий против инфекционных заболеваний, нарушение гигиенических правил приема опоросов и другие недочеты способствуют активизации условно-патогенной микрофлоры и распространению факторных инфекций среди поголовья свиней.

Опытные группы формировали на основании клинических исследований из супоросных и подсосных свиноматок, а также из животных, находящихся в индивидуальных клетках после искусственного осеменения. В состав опытных групп были включены свиноматки нестандартных кондиций (худые или ожиревшие), с признаками угнетения и нарушения аппетита, внешне отличающиеся бледностью кожных покровов, наличием взъерошенной, матовой шерсти.

Внешние характеристики мочи у свиноматок на период исследований находились в соответствии с физиологическим состоянием организма и ассоциацией изолированных из мочи микроорганизмов. Вероятно, супоросность и последующий опорос определяют ослабление резистентности. В связи с этим наблюдали увеличение числа ассоциаций микроорганизмов, изменение состава и внешнего вида мочи (табл. 1). Наиболее выраженные изменения регистриро-

вали в составе мочи супоросных и подсосных свиноматок (табл. 2), где у отдельных животных (с клиническими признаками ИМП) количество общего белка возросло до 10–12 г/л, концентрация мочевого кислоты – до 1090 мкмоль/л, гамма-глутамилтрансферазы – до 72 ед/л. В двух пробах мочи, взятой от супоросных свиноматок, содержание глюкозы составило 6,2–6,5 моль/л, что в десятки раз превосходило количество глюкозы в моче клинически здоровых животных. Реакция мочи составляла pH 5,4...5,9. У одной глубоко супоросной свиноматки, у которой моча была мутной, грязно-коричневого цвета, pH составила 7,8.

Изучение биохимических показателей крови у подозрительных по заболеванию животных показало, что они существенно не отличались от таковых у клинически здоровых свиноматок.

Таблица 1. Результаты органолептических и бактериологических исследований мочи

Группа свиноматок	Исследования мочи свиноматок				Выделены микроорганизмы
	количество проб, шт.	цвет	запах	наличие осадка	
Цех осеменения	9	От светло-соломенного до соломенного цвета	Специфический	Прозрачная	<i>Escherichia coli (F41)</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Kocuria rosea</i> , <i>Myroides</i> sp.
Супоросные	13	Соломенный, грязно-желтый, коричневый с красным оттенком	Специфический	Чаше мутная	<i>Escherichia coli (A20, F41)</i> , <i>Micrococcus lylae</i> , <i>Streptococcus</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> , <i>Aerococcus viridans</i> , <i>Alloiococcus otitis</i> , <i>Myroides</i> sp.
Подсосные	21	От светло-желтого до интенсивно-желтого цвета	Специфический	Чаше прозрачная	<i>Escherichia coli (F41, O15)</i> , <i>Streptococcus</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Kocuria rosea</i> , <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Aerococcus viridans</i> , <i>Morganella morganii</i> sp. <i>siboni</i>

Таблица 2. Результаты биохимических исследований мочи свиноматок

Группа свиноматок	Число проб	Биохимические показатели мочи свиноматок					
		гамма-глутамил-трансфераза, ед./л	глюкоза, моль/л	общий белок, г/л	мочевая кислота, мкмоль/л	мочевина, мкмоль/л	креатинин, мкмоль/л
Цех осеменения	3	3,79 + 2,12	0,16 + 0,06	3,62 + 1,02	93,65 + 55,82	0,12 + 0,10	2435 + 1546
Супоросные	9	12,58 + 2,39	1,87 + 1,57	6,21 + 2,62	391,1 + 104,5	0,2 + 0,18	Не исследован
Подсосные	3	54,09 + 17,5	0,30 + 0,05	8,03 + 0,94	787,7 + 247,4	0,04 + 0,0	Не исследован

У свиноматок с подозрением на ИМП гематологические показатели существенно не отличались от таковых в группе клинически здоровых животных (табл. 3). Однако в опытной группе свиноматок наблюдали лейкоцитоз, что указывало на воспалительные процессы. Микроскопическими исследованиями осадка (центрифугата) мочи обнаружены лейкоциты, причем у свиноматок в цехе осеменения число лейкоцитов в поле зрения микроскопа достигало 3–4 клеток, у глубокосупоросных – 6–7, у подсосных свиноматок – 5–6 клеток. Эритроциты в препаратах мочи не установлены.

Таблица 3. Гематологические показатели у свиноматок

Свиноматки	Гемоглобин, г/л	Количество эритроцитов, $10^{12}/л$	Количество лейкоцитов, $10^9/л$
Опыт	9,60 ± 0,21	6,17 ± 0,35	16,60 ± 1,24
Контроль	9,70 ± 0,24	6,00 ± 0,45	15,70 ± 1,50

Обращает на себя внимание содержание общего белка в моче (протеинурия), рост концентрации которого наблюдается от момента осеменения свиноматок до подсосного периода (см. табл. 2). Это указывает на воспалительные процессы в мочевыводящих путях, хотя уровень бактериурии в группе свиноматок из цеха осеменения не велик ($5 \cdot 10^3$ – $1 \cdot 10^4$ КОЕ/мл). Вероятно, размножение микроорганизмов может сдерживаться благодаря сдвигу реакции мочи в кислую сторону (рН 5,4...5,6). В норме белок в моче не присутствует. Увеличение белка в более поздние сроки может быть связано и с более высоким белковым уровнем кормления свиноматок.

Заключение

Микробиоценоз мочевыводящих путей у свиноматок характеризуется широким видовым многообразием условно-патогенных микроорганизмов, являющихся потенциальными возбудителями воспалительных процессов.

Физико-химические характеристики мочи у свиноматок при бактериурии, а также изменения в составе крови не являются постоянными величинами и связаны, вероятно, с физиологическим периодом жизни, условиями кормления, содержания, а также эпизоотической ситуацией на каждой конкретной ферме.

При диагностике инфекций мочевыводящих путей необходимо учитывать комплекс изменений, происходящих в составе мочи.

Литература

1. Андросик, Н. Н. Достижения и перспективы развития ветеринарной науки. Актуальные проблемы патологии сельскохозяйственных животных / Материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Минск : Бел. изд. тов-во «Хата», 2000. – С. 11–12.
2. Инфекции мочевыводящих путей свиней, обусловленные *Actinobaculum suis* / Плешакова В. И. [и др.]. – Омск : Изд-во ОГМА, 2001. – 128 с.

3. Biering-Sorensen, U. Om den almindelige forekomst af cystitis og ascenderende pyelonephritis hos soer. (On pathogenesis and relative frequency of cystitis and pyelonephritis in sows) / U. Biering-Sorensen // Medlemsbl. Dan. Dyslaegeforen. – 1967. – Vol. 50. – P. 1103–1107.

4. Hogh, P. E. Corynebacterium suis infection Danish pigs / P. E. Hogh, U. Blom, J. L. Larsen // 8th Int. Pig. Vet. Congr. Ghent. – 1984. – Proc. – S. 150.

Поступила 14.06.2017 г.

УДК 636.52/.58

В. Г. Тюрин¹, В. Г. Семенов², Н. Г. Иванов², Е. Е. Иванова²

КОРРЕКЦИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ И СПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНОГЕНЕЗА ОРГАНИЗМА В РЕАЛИЗАЦИИ БИОПОТЕНЦИАЛА ПТИЦЫ

*¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт
ветеринарной санитарии, гигиены и экологии», г. Москва, Россия*

*²ФГБОУ ВО «Чувашская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Чебоксары, Чувашская Республика, Россия*

Введение

В обеспечении населения качественными продуктами питания особое место отводится птицеводству, которое способно решать эту проблему в короткие сроки и с наименьшими затратами. Однако необходимо помнить, что дальнейшее развитие и повышение конкурентоспособности птицеводства возможно только при широком внедрении инновационных ресурсосберегающих технологий и оборудования, позволяющих максимально реализовать генетический потенциал продуктивности птицы [1].

В условиях промышленного птицеводства добиться высокой продуктивности, сохранности и получения биологически полноценной и доброкачественной продукции иногда является весьма проблематичным, вследствие прессинга экологических и технологических факторов среды обитания, что негативно отражается на физиологическом состоянии организма. Под влиянием указанных неблагоприятных факторов часто снижается неспецифическая резистентность и иммунологическая реактивность птицы. Повреждения иммунной системы ведут к иммунодефицитному состоянию и ослаблению устойчивости организма к возбудителям инфекционных болезней.

Применение антибиотиков и химиотерапевтических средств с целью профилактики и терапии болезней птиц зачастую приводит к нарушению нормальной микрофлоры, появлению резистентных штаммов возбудителей и снижению иммунного статуса. Создание здорового поголовья за счет внедрения достижений науки, техники и передового опыта будет способствовать дальнейшему повышению продуктивности птицы [2].

В контексте вышеизложенного проблема восстановления иммунологических нарушений с использованием иммуностимуляторов в настоящее время является актуальной для современной науки и практики, поскольку большинство болезней сопровождаются вторичной иммунологической недостаточностью [3].

Цель работы – реализовать биопотенциал птицы путем коррекции неспецифической резистентности и специфического иммуногенеза организма.

Материалы и методы исследований

Экспериментальная часть научно-исследовательской работы проведена на одной из птицефабрик Чувашской Республики, а обработка материалов осуществлена в лаборатории био- и нанотехнологий ФГБОУ ВО Чувашская ГСХА. Объектами исследований была клинически здоровая птица яичного направления аутосексного кросса «Ломанн коричневый». Были сформированы четыре группы суточных цыплят по 60 голов в каждой по принципу групп-аналогов. Иммуностимулятор PV-1 скармливали цыплятам: 1-й опытной группы – в дозе по 0,05 мл/кг массы тела, 2-й опытной группы – по 0,10, 3-й опытной группы – по 0,15 мл/кг массы тела. Препарат PV-1 скармливали с кормом один раз в сутки в течение 10 сут. с 10-суточным перерывом, с повторением циклов до 111-суточного возраста птицы. 4-я контрольная группа цыплят препарат не получала. Молодняк подопытных групп до 111-суточного возраста содержали в цехе выращивания, а затем переводили в цех для содержания кур-несушек родительского стада. Условия содержания, кормления и ухода для всех групп птицы были одинаковыми.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что у цыплят опытных и контрольной групп в суточном возрасте живая масса не имела достоверных отличий. Однако на 30-е сутки цыплята опытных групп по массе превзошли птицу контрольной группы. Так, живая масса цыплят опытных групп была выше: в 1-й – на 1,5%, во 2-й – на 2,5, в 3-й – на 4,5 % ($P < 0,01$). В последующем цыплята опытных групп росли и развивались лучше, чем молодняк контрольной группы. На 110-е сутки живая масса молодняка птицы 1-й, 2-й и 3-й опытных групп превышала показатели по сравнению с контролем на 5,4, 7,1 и 10,1 % ($P < 0,01–0,001$) соответственно.

Установлено, что применение иммуностимулятора PV-1 способствовало повышению количества эритроцитов в крови птиц 1-й опытной группы на 9,5–15,4 % ($P > 0,05$), 2-й – на 13,8–18,1 ($P > 0,05$) и 3-й – на 16,3–22,1 % ($P < 0,05–0,01$) по сравнению с контролем. В крови цыплят опытных групп содержание гемоглобина также оказалось выше, нежели в контроле: в 1-й – на 2,0–13,1 %, во 2-й – на 5,5–15,7, в 3-й – на 7,9–20,1 % ($P < 0,05$). Количество лейкоцитов у птиц с возрастом повышалось, что, по-видимому, связано

со становлением функциональной деятельности органов кроветворения и иммунной системы. У птиц опытных групп содержание лейкоцитов в 30-, 60- и 110-суточном возрасте было выше, чем в контрольной: в 1-й – на 4,5–15,3 % ($P < 0,05$), во 2-й – на 3,8–18,1 ($P < 0,05$), в 3-й – на 3,0 ($P > 0,05$) – 20,7 % ($P < 0,01$). Увеличение количества эритроцитов и концентрации гемоглобина в крови птиц опытных групп на фоне иммунокоррекции свидетельствует об улучшении у них гемопоэза, а повышение числа лейкоцитов – об активизации клеточных защитных факторов организма.

Наивысший уровень общего белка и его фракций выявлен в 90-суточном возрасте. По-видимому, в этом возрасте происходит становление белкового обмена у молодняка до уровня взрослой птицы, а в дальнейшем – стабилизация указанного обмена. Следует отметить, что содержание общего белка у птиц опытных групп было выше, чем в контроле: в 1-й – на 3,4–4,7 % ($P > 0,05$), во 2-й – на 4,4–6,7 ($P < 0,05$) и 3-й – на 5,4–11,2 % ($P < 0,05–0,01$). Содержание общего белка в опытных группах повышалось за счет увеличения количества альбуминов и гамма-глобулинов.

Изучение иммунологических показателей крови показало, что фагоцитарная активность лейкоцитов с возрастом птицы увеличивается. У молодняка опытных групп этот показатель был выше по сравнению с контролем: в 60-суточном возрасте в 1-й опытной группе – на 9,8 %, во 2-й – на 18,2, в 3-й – на 20,4 % ($P < 0,05–0,01$); в 90-суточном возрасте – на 2,6, 6,8, 7,2 % ($P < 0,05$); в 110-суточном возрасте – на 14,6, 20,5, 29,5 % ($P < 0,05–0,001$) соответственно. Поглотительная способность псевдоэозинофилов варьировала. Во 2-й и 3-й опытных группах фагоцитарный индекс оказался выше на 1,7–11,7 % ($P < 0,05–0,01$), нежели в контроле.

Лизоцимная активность сыворотки крови птиц 1-й, 2-й, 3-й опытных групп на протяжении всего периода исследований была выше, чем в контроле: в 60-суточном возрасте – на 29,6, 45,8, 47,0 %; в 90-суточном – на 15,7, 32,1, 39,0 %; в 110-суточном – на 13,7, 23,8, 35,0 % ($P < 0,01–0,001$) соответственно.

Бактерицидная активность сыворотки крови птиц 1-й, 2-й и 3-й опытных групп также оказалась выше, нежели в контроле: в 60-суточном возрасте – на 11,6, 15,9, 15,8 %; в 90-суточном – на 7,6, 11,1, 12,4 %; в 110-суточном – на 6,0, 11,0, 12,6 % ($P < 0,05–0,01$) соответственно.

Таким образом, применение иммуностимулятора PV-1 при выращивании цыплят способствовало улучшению показателей эритропоэза, лейкопоэза и белкового обмена, а также повышению иммунологических показателей организма молодняка.

Нами изучено влияние иммуностимулятора PV-1 на особенности формирования иммунитета при вакцинации птиц против болезней Гамборо, Ньюкасла и ССЯ-76.

Иммунизация цыплят против болезни Гамборо привела к максимальному накоплению титра специфических антител через 30 сут. после вакцинации. В опытных группах титр антител оказался выше, чем в контроле: в 1-й – на

1,8 %, во 2-й – на 14,2, в 3-й – на 53,3 %. В последующие сроки исследований титр специфических антител снижался во всех опытных группах: на 60-е сутки после вакцинации на 31,7–50,6 %, на 120-е сутки – на 33,1–64,2 %. Необходимо отметить, что напряженность иммунитета против болезни Гамборо на фоне применения иммуностимулятора PV-1 во всех опытных группах сохранялась до 120 сут. на уровне 47,4–66,9 %, а в контроле титры антител снижались в 2,8 раза.

Максимальное накопление специфических вируснейтрализующих антител против болезни Ньюкасла отмечено через 60 сут. после вакцинации птицы. В 1-й опытной группе титры антител были выше по сравнению с контролем на 31,5 %, во 2-й – на 38,9, в 3-й опытной – на 50,0 %. К 90-му дню уровень антител постепенно снижался во всех подопытных группах. Однако в опытных группах титры антител оказались выше, чем в контроле: в 1-й – на 20,0 %, во 2-й – на 30,0, в 3-й – на 48,0 %. Применение иммуностимулятора PV-1 способствовало сохранению титра вируснейтрализующих антител на высоком уровне до 160 дней после иммунизации, тогда как у птиц контрольной группы он заметно снижался с 90-го дня после вакцинации.

Иммунизация молодняка птицы против болезни ССЯ-76 на фоне применения иммуностимулятора PV-1 привело к повышению титра антител в опытных группах по сравнению с контрольной группой: в 1-й – на 17,8 %, во 2-й – на 24,3, в 3-й – на 26,5 %. На 100-й, 170-й и 270-й дни после вакцинации титр вируснейтрализующих антител в контрольной группе птиц постепенно снижался. Однако в опытных группах он был высоким, особенно при применении PV-1 в дозе 0,15 мл на 1 кг живой массы птицы.

Таким образом, применение иммуностимулятора PV-1 способствует повышению напряженности иммунитета при вакцинации птицы против болезней Гамборо, Ньюкасла и ССЯ-76. При этом продолжительность сохранения специфических вируснейтрализующих антител повышается по сравнению с контролем.

Установлено, что если яйценоскость на начальную несущку за 68 недель жизни в контрольной группе составила 196 шт., то в 1-й опытной группе она была больше на 9,2 %, во 2-й – на 9,7, в 3-й – на 17,8 %.

В расчете на среднюю несущку яйценоскость в контрольной группе составила 220 шт. В опытных группах она была выше, чем в контроле: в 1-й – на 4,1 %, во 2-й – на 5,4, в 3-й – на 11,8 %. Куры-несушки контрольной группы достигли 50 %-ной яйцекладки в возрасте 158 сут., 1-й и 2-й опытных групп – 152, 3-й опытной группы – 155 сут. Пик яйценоскости куры-несушки подопытных групп достигли на 6-м месяце яйцекладки: контрольной группы – в 199-суточном возрасте, 1-й опытной группы – в 192-суточном, 2-й опытной – 200-суточном, 3-й опытной – в 183-суточном возрасте.

Одним из важных показателей в практике промышленного птицеводства считается масса яиц. В начале продуктивного периода у птиц контрольной группы масса яиц была невысокой и составила $52,3 \pm 0,2$ г. В опытных группах

она была выше, чем в контроле: в 1-й – на 0,5 %, во 2-й – на 1,3 ($P < 0,05$), в 3-й – на 4,6 % ($P < 0,01$). В разгар яйцекладки масса яиц была выше и составила в контрольной группе $56,8 \pm 0,13$ г, в 1-й опытной группе – $57,1 \pm 0,2$ г, во 2-й опытной группе – $57,8 \pm 0,2$ г ($P < 0,05$), в 3-й опытной группе – $58,1 \pm 0,21$ г ($P < 0,01$). Выявлено, что в яйцах молодых кур содержится больше белка (58,5–59,6 %) и меньше желтка (26,3–27,1 %), чем у кур старшего возраста (57,6–58,1 и 28,3–28,5 % соответственно). Использование препарата PV-1 оказало влияние на массу белка яиц в начальный период яйценоскости, т. е. она повышалась ($P < 0,01$). Масса желтка в разрезе подопытных групп птицы не отличалась достоверными изменениями.

Сохранность птицы за четыре недели выращивания составила: в контрольной группе – 98,3 %, в 1-й опытной – 98,3 %, во 2-й и 3-й опытных группах – по 100 %. Сохранность птицы с 5-й по 16-ю неделю в контрольной группе составила 86,6 %, в 1-й опытной группе – 96,6 %, во 2-й и 3-й опытных группах – по 99,8 %. По-видимому, это связано с тем, что препарат PV-1 способствует повышению неспецифической резистентности организма птицы и устойчивости к действию неблагоприятных факторов внешней среды.

Изучением мясной продуктивности птиц, выращенных при использовании иммуностимулятора PV-1, установлено повышение убойного выхода на 1,7–5,0 %; выход съедобных частей увеличился в опытных группах от $62 \pm 3,2$ до $155 \pm 3,4$ г ($P < 0,001$).

Заключение

Для повышения продуктивности, неспецифической резистентности и сохранности птицы рекомендовано использовать иммуностимулятор PV-1 в дозе 0,15 мл на 1 кг живой массы путем скормливания с кормом один раз в сутки в течение 10 дней с 10-дневным перерывом.

Для повышения напряженности иммунитета при вакцинации птицы против болезней Гамборо, Ньюкасла и ССЯ-76 рекомендовано использовать иммуностимулятор PV-1 в дозе 0,1–0,15 мл на 1 кг живой массы путем скормливания с кормом за 10–12 дней до иммунизации.

Литература

1. Фисинин, В. И. Биологические и экономические аспекты производства мяса бройлеров в клетках и на полу / В. И. Фисинин, А. Ш. Кавтарашвили // Птицеводство. – М., 2016. – № 5. – С. 25–31.
2. Петрянкин, Ф. П. Инфекционные болезни птиц / Ф. П. Петрянкин, Н. Г. Иванов. – Чебоксары : Новое Время, 2012. – 150 с.
3. Петрянкин, Ф. П. Иммуностимуляторы в практике ветеринарной медицины / Ф. П. Петрянкин, В. Г. Семенов, Н. Г. Иванов. – Чебоксары : Новое Время, 2015. – 272 с.

Поступила 15.05.2017 г.

А. В. Святковский, П. С. Рябцев, А. А. Святковский

ПРОДУКТИВНОСТЬ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ У ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ СОЧЕТАННОМ ПРИМЕНЕНИИ КОРМОВОГО КОМПЛЕКСА «ЭНЕРДЖИ» И ПРОБИОТИКА

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт
птицеводства – филиал ФГБНУ ФНЦ «Всероссийского научно-исследовательского
технологического института птицеводства РАН»,
г. Санкт-Петербург – Ломоносов, Россия*

Введение

Промышленное птицеводство характеризуется высокими требованиями к увеличению продукции, улучшению ее качества и снижению себестоимости. Соответствие этим требованиям поддерживается не только за счет внедрения новейших технологий содержания, кормления и увеличения поголовья птицы, но и путем введения в рацион биологически активных добавок. Одно из направлений применения кормовых добавок – обеспечение благоприятных условий для жизнедеятельности полезной микрофлоры кишечника, что способствует улучшению пищеварения и усвоению питательных веществ корма. При правильном применении биологически активные вещества улучшают клинический статус животных, продуктивность, гематологические показатели и резистентность организма [1, 2, 4].

Ранее нами установлена возможность увеличения яйценоскости у кур без снижения качества яйца путем сочетанного применения пробиотического кормового комплекса «Биум» и антиоксиданта митофена [3, 5].

Цель работы – изучить влияние кормового комплекса «Энерджи» и пробиотического кормового комплекса «Биум» при сочетанном применении на продуктивность и резистентность организма цыплят-бройлеров.

Материалы и методы исследований

Кормовой комплекс «Энерджи» для птиц, разработанный ООО ПТК «Питер-Био» (г. Санкт-Петербург), включает набор полисахаридов, органических кислот (янтарная, лимонная), аминокислот (метионин, лизин), молочнокислую закваску, а также витамины и природные алюмосиликаты.

Кормовой комплекс «Биум» представляет собой композицию природных псевдоолигосахаридов, антиоксидантов, пробиотика и стабилизатора. Он обладает свойствами пробиотика, иммуномодулятора и пребиотика. Его особенностью является способность сохранять активность действующих веществ в течение трех лет при обычных условиях хранения.

Для выполнения поставленных задач в условиях вивария ВНИВИП были проведены опыты на цыплятах-бройлерах недельного и трехнедельного возраста. По принципу аналогов были сформированы подопытные и контрольная группы, по 10 голов в каждой. Цыплятам-бройлерам подопытных групп вместе с основным рационом с начала опыта давали кормовой комплекс «Энерджи» из расчета 1,5 кг на 1 т корма и «Биум» из расчета 50 г на 1 т корма в течение месяца. Контрольная группа получала основной рацион без кормовых добавок.

В ходе эксперимента регулярно определяли параметры физиологического развития цыплят, прирост живой массы и иные показатели, отражающие здоровье птицы. Взятие проб крови для лабораторных исследований осуществляли до опыта и на 30-й день эксперимента. В крови определяли содержание гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов унифицированными методами, уровень малонового диальдегида по реакции с тиобарбитуровой кислотой и неферментных катионных белков, содержащихся в лизосомах (гранулах) нейтрофильных и эозинофильных гранулоцитов, – цитохимически по методу Пигаревского. Полученные данные подвергали статистической обработке общепринятыми методами и оценивали с помощью критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

В ходе эксперимента не выявлено отрицательного влияния совместного использования изучаемых кормовых добавок на клиническое состояние молодняка птицы. Вместе с тем установлена положительная динамика среднесуточного прироста массы тела цыплят в подопытных группах: для цыплят, получавших добавки с недельного возраста на 30-й день исследований он составил 33,41 г, в контрольной группе – 32,23; у цыплят более старшего возраста – 66,51 и 58,76 г соответственно. При этом выход мясной продукции был лучше от цыплят, получавших добавку с трехнедельного возраста и составил в подопытной группе 69,62 %, в контрольной группе – 65,49 %.

Одновременное применение кормовых комплексов «Энерджи» и «Биум» цыплятам-бройлерам не оказало существенного влияния на морфологический состав их крови в обеих подопытных группах.

Проверку антиоксидантной защиты организма осуществляли с помощью определения в эритроцитах крови малонового диальдегида. Его содержание у молодняка птицы подопытных групп было меньше в отношении птицы контрольных групп на 5,68 и 3,14 % соответственно.

Неспецифическую резистентность цыплят-бройлеров оценивали с помощью лизосомально-катионного теста. Было отмечено, что по сравнению с контрольными группами у цыплят подопытных групп наблюдалось повышение уровня лизосомальных катионных белков на 26,83 ($P < 0,01$) и 66,96 % ($P < 0,01$) соответственно.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о безвредности и перспективности совместного использования кормового комплекса «Энерджи» и препарата «Биум» с целью повышения продуктивности цыплят-бройлеров и усиления неспецифической резистентности. Наилучший отклик по исследованным параметрам показали цыплята, получавшие добавки с трехнедельного возраста.

Литература

1. Иванов, А. В. Токсикологическая оценка препарата «Янтарос» / А. В. Иванов, К. Х. Папуниди, Ю. В. Чугунов // Профилактика нарушений обмена веществ и незаразных болезней молодняка сельскохозяйственных животных : сб. науч. тр. – Казань, 1998. – С. 110–111.
2. Методические положения по применению кормовых комплексов «Энерджи» и «Ветохит» в птицеводстве / А. В. Святковский [и др.]. – СПб., Ломоносов : ВНИВИП, 2016. – 10 с.
3. Рябцев, П. С. Яичная продуктивность и качество яиц кур при сочетанном применении антиоксиданта и пробиотика / П. С. Рябцев, А. В. Святковский, А. А. Святковский // Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов для АПК : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 95-летию Армавирской биофабрики. – Армавир, 2016. – С. 302–306.
4. Святковский, А. А. Кормовой комплекс «Энерджи» в промышленном птицеводстве / А. А. Святковский, П. С. Рябцев, В. А. Цинтин // Эффективное животноводство. – 2015. – № 8 (117). – С. 42–43.
5. Святковский, А. В. Применение препарата БИУМ с целью повышения яичной продуктивности кур / А. В. Святковский, П. С. Рябцев, А. А. Святковский // Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 50-летию ин-та ГНУ ВНИВИП Россельхозакадемии. – СПб. : Любавич, 2014. – С. 171–174.

Поступила 26.06.2017 г.

УДК 619:613.636.083(075.8)

В. А. Медведский, Д. В. Медведева

ГИГИЕНА ВЫРАЩИВАНИЯ ИНДЕЙКИ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

*УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Беларусь*

Введение

Промышленное разведение индеек как отрасль мясного птицеводства является важным источником увеличения производства мяса и расширения его ассортимента. Производство индюшатины в мире увеличивается самыми высокими темпами по сравнению с другими видами мяса. Крупнейшими производителями мяса индеек являются США, Франция, Германия, Италия и Великобритания. За рубежом уровень потребления мяса индеек в традиционный сезон (Рождество) изменился мало, но доля его потребления в остальное время года существенно увеличилась [3, 4].

Большой проблемой в промышленном птицеводстве является поддержание высокого иммунного статуса птицы для увеличения сохранности поголовья, продуктивности птицы и, соответственно, качества мяса. Ученые и практики последнее время большое внимание уделяют качеству мяса птицы с установлением его важной роли в пищевой цепочке человека и в этиологии ряда серьезных заболеваний человека [1, 2].

Производство продуктов из мяса индеек в отечественной практике ограничено, что не соответствует основным тенденциям реализации мяса индеек за рубежом. Техника и технология переработки мяса индеек требуют совершенствования с учетом целей и задач, которые предусматривают повышение его промышленного производства.

Для получения экологически чистого мяса, которое идет на детское питание, необходимо выращивать эту птицу в чистых помещениях, кормить качественными кормами без применения биодобавок.

Цель исследований – разработать экологически чистые методы выращивания индеек на мясо для детского питания.

Задачи:

- 1) определить параметры микроклимата в помещениях для содержания молодняка индейки;
- 2) установить интенсивность роста и расход кормов при выращивании самцов и самок индейки;
- 3) выявить различия в биохимических показателях крови у молодняка обоих полов.

Материалы и методы исследований

Работу выполняли в 2015–2016 гг. в условиях ОАО «Птицефабрика Городок» Витебской области и лаборатории кафедры гигиены животных. Отдельные исследования проводили в НИИ прикладной биотехнологии УО ВГАВМ.

Объектом исследований служил молодняк индейки кросса Big 6.

Для проведения опытов по принципу аналогов подбирали птиц одного кросса, пола, возраста и живой массы. Различия по живой массе и продуктивности между группами не превышала 3,0 %. Условия содержания у птицы были одинаковыми в обеих группах. Соблюдалась плотность посадки, фронт кормления и поения. Кормление птицы соответствовало установленным нормам для каждой возрастной группы.

При кормлении индюшат возрастом 0–90 дней использовали комбикорм следующего состава: пшеница – 38,0 %; ячмень – 17,0; шрот соевый – 30,0; шрот подсолнечный – 10,0; жир кормовой – 1,7; соль поваренная пищевая – 0,1; отсев известняковый – 2,2; премикс П 5-1 – 1,0 %. В данном рецепте полнорационного комбикорма содержалось: обменной энергии – 281 ккал/100 г, сырого протеина – 23,3 %, сырого жира – 4,39, сырой клетчатки – 5,28 %.

При кормлении индюшат возрастом 91–140 дней использовали комбикорм в состав которого входили: пшеница – 37,0 %, ячмень – 25,0, овес – 20,0, шрот

соевый – 3,0, жмых подсолнечный – 4,65, шрот подсолнечный – 4,0, жир костный – 1,0, масло рапсовое – 1,0, соль поваренная пищевая – 0,25, фосфат дефторированный – 0,5, мел – 1,0, известняковая крупка – 1,6, премикс П 1-2 – 1,0 %. В данном рецепте содержалось: обменной энергии – 284 ккал/100 г, сырого протеина – 13,76 %, сырого жира – 5,19, сырой клетчатки – 5,79 %.

Результаты и их обсуждение

Установлено, что температура воздуха в птичнике в первую неделю жизни птицы находилась в пределах гигиенической нормы и составляла 32,5–33,0 °С, во вторую неделю отмечалось снижение температуры на 4,2–4,6 °С. На третьей неделе жизни молодняку индейки создавали температуру воздуха в пределах 25,4–25,8 °С. С 43-го по 140-й день жизни поддерживали температуру не ниже 20,0 °С.

В помещениях для содержания индеек было довольно сухо. Относительная влажность воздуха во все периоды исследований не превышала гигиеническую норму и находилась в пределах 50,9–55,8 %. Установлено, что в утреннее время этот показатель был несколько выше, чем в дневное и вечернее, однако это повышение не имело достоверных различий (табл. 1).

Таблица 1. Относительная влажность воздуха в помещении для индейки, %

Возраст, дней	Время			
	8 ⁰⁰	12 ⁰⁰	16 ⁰⁰	22 ⁰⁰
0–7	55,8 ± 3,18	55,5 ± 2,20	53,6 ± 2,51	53,0 ± 2,21
8–14	54,6 ± 2,54	53,7 ± 1,71	52,1 ± 1,60	50,9 ± 3,34
15–21	55,6 ± 1,33	55,3 ± 2,34	53,9 ± 2,84	52,7 ± 1,70
22–28	55,3 ± 4,17	55,3 ± 1,78	55,0 ± 1,90	54,9 ± 1,29
29–35	55,8 ± 2,09	55,6 ± 2,13	54,9 ± 2,00	53,2 ± 2,24
36–42	53,5 ± 1,74	53,2 ± 3,15	53,2 ± 3,34	52,1 ± 1,99
43–140	54,0 ± 3,28	52,9 ± 2,40	52,0 ± 2,15	51,7 ± 2,08

Важным показателем микроклимата в помещениях для птицы является содержание аммиака в воздухе.

Установлено, что минимальное содержание аммиака наблюдалось в помещении для индюшат первые две недели (7,0–10,5 мг/м³). В дальнейшем содержание этого газа в помещении повышалось. Однако превышение гигиенических норм по этому показателю отмечено не было (9,0–14,0 мг/м³ при норме не более 15,0 мг/м³) (табл. 2).

Исследования показали, что самцы и самки обладали не одинаковой энергией роста. Самцы на протяжении всего опыта росли лучше.

Установлено, что в недельном возрасте среднесуточный прирост самцов был на 3,9 %, а в 70-дневном возрасте на 6,9 % выше, чем у самок.

Таблица 2. Содержание аммиака в помещениях для индейки, мг/м³

Возраст, неделя	Время			
	8 ⁰⁰	12 ⁰⁰	16 ⁰⁰	22 ⁰⁰
1	10,5 ± 0,01	9,2 ± 0,09	8,3 ± 0,07	8,9 ± 0,07
2	10,0 ± 1,10	7,9 ± 0,03	7,0 ± 0,03	8,9 ± 0,09
3	12,7 ± 0,09	12,0 ± 0,07	11,2 ± 0,07	12,5 ± 0,10
4	12,9 ± 0,10	10,0 ± 0,09	9,8 ± 0,09	11,2 ± 0,09
5	13,2 ± 0,07	10,6 ± 0,10	9,0 ± 0,10	11,0 ± 0,03
6	13,0 ± 0,08	11,8 ± 0,07	10,4 ± 0,08	12,7 ± 0,04
7	14,5 ± 0,20	12,2 ± 0,09	10,7 ± 0,01	12,3 ± 0,09
10	13,2 ± 0,09	10,7 ± 0,07	12,2 ± 0,08	13,4 ± 0,10
17	13,7 ± 0,06	12,7 ± 0,08	12,0 ± 0,09	13,9 ± 0,12
20	13,0 ± 0,11	10,8 ± 0,08	11,5 ± 0,12	14,0 ± 0,09

В конце опыта живая масса самцов была на 4,9 кг выше, чем у самок, а среднесуточные приросты живой массы за период исследований у самцов составили 156,5 г, а у самок 121,7 г. Таким образом, интенсивность роста самцов была на 21,2 % выше, чем самок. Анализ расхода кормов за сутки показал, что самцы поедали кормов больше, чем самки на 18,8 % (табл. 3).

Таблица 3. Динамика живой массы и расход кормов при выращивании индейки

Возраст, дней	Живая масса, г		Расход кормов на одну голову, сутки/ г	
	самок	самцов	самок	самцов
7	179 ± 6,13	186 ± 9,54	20,9 ± 1,17	22,3 ± 0,94
14	437 ± 14,89	445 ± 13,19	43,8 ± 2,24	51,5 ± 2,00
28	1062 ± 19,10	1298 ± 17,83	96,3 ± 3,39	116,9 ± 2,77
42	2472 ± 13,45	2676 ± 25,36	156,0 ± 3,00	190,8 ± 2,14
56	3900 ± 17,56	5010 ± 21,69	225,3 ± 3,16	283,4 ± 1,21
70	7376 ± 28,38	7882 ± 18,33	298,7 ± 2,10	377,8 ± 1,92
91	9100 ± 29,27	14 370 ± 34,88	380,1 ± 1,94	499,3 ± 2,07
105	10 080 ± 25,35	14 220 ± 24,70	423,6 ± 3,17	568,5 ± 4,23
126	14 680 ± 28,01	18 410 ± 37,07	590,0 ± 4,29	615,8 ± 3,65
142	17 200 ± 29,58	22 100 ± 27,44	605,7 ± 5,13	654,2 ± 3,86
Среднесуточный прирост	121,68 ± 9,13	156,53 ± 6,39	—	—
Затрачено кормов на одну голову, кг	—	—	39,8	47,3

Интересным показателем при выращивании молодняка индеек, на наш взгляд, на мясо является уровень белкового обмена в зависимости от пола.

По содержанию общего белка и альбуминов в сыворотке крови индюшат отмечены возрастные изменения. Однако достоверных различий по этим показателям между самцами и самками не установлено. Содержание глобулиновой фракции в сыворотке крови во все периоды исследований было низким (кроме

131-го дня), как у самцов, так и у самок. Низкое содержание глобулинов свидетельствует о низком уровне гуморальной защиты организма птицы.

По-видимому, это сказалось и на здоровье молодняка. Установлена высокая заболеваемость птицы, сохранность самцов при этом составила 99,3 %, самок – 96,8 % (табл. 4). Низкое содержание глобулинов свидетельствует о низком уровне гуморальной защиты организма птицы.

Таблица 4. Показатели белкового обмена в организме индеек, г/л

Возраст, дней	Общий белок		Альбумины		Глобулины	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
42	27,4 ± 1,13	26,9 ± 2,34	11,7 ± 0,88	10,3 ± 0,07	15,7 ± 0,90	16,6 ± 0,19
49	27,9 ± 0,94	26,9 ± 1,17	13,5 ± 0,19	12,5 ± 0,11	14,4 ± 0,74	14,4 ± 0,12
56	31,0 ± 2,97	27,7 ± 3,29	15,8 ± 0,33	13,7 ± 0,17	15,2 ± 0,11	14,0 ± 0,14
70	33,8 ± 0,75	29,3 ± 1,74	16,9 ± 0,17	12,8 ± 0,09	16,9 ± 0,16	12,4 ± 0,12
113	32,9 ± 2,05	29,0 ± 2,33	15,3 ± 0,81	13,5 ± 0,14	17,6 ± 0,10	11,4 ± 0,09
131	36,7 ± 1,80	30,7 ± 2,11	16,8 ± 1,30	13,9 ± 0,19	19,9 ± 0,21	16,8 ± 0,14
Норма	25,6–43,0		7,5–29,4		17,5–29,4	

Анализ содержания кальция и фосфора в крови индюшат показал, что концентрация кальция находилась в пределах физиологической нормы только в возрасте 42 дней у самцов. В остальные периоды исследований содержание этого элемента опускалось ниже нормы, однако у самцов этот показатель был выше, чем у самок. Низкий уровень кальция в крови индюшат мы связываем с недостатком этого элемента в применяемых кормах для молодняка.

По содержанию фосфора в крови индюшат картина была несколько другой. У самцов фосфор в крови во все периоды исследований был выше нормы. При этом самыми высокими показатели были у молодняка в возрасте 49 и 70 дней. Аналогичные показатели установлены и у самок.

Заключение

Установлено, что для получения высококачественного, экологически чистого мяса индейки необходимо строго соблюдать параметры микроклимата в помещениях, применять корма без химических компонентов. Регулярно исследовать кровь, определять уровень здоровья молодняка, наиболее эффективно выращивать на мясо самцов индейки.

Литература

1. Ветеринарная санитария : учеб. пособие для студ. спец. «Вет. санитария и экспертиза» с.-х. вузов / В. А. Медведский [и др.] ; под. ред. В. А. Медведского. – Минск : Изд-во ИВЦ Минфина, 2012. – 525 с.

2. Медведский, В. А. Гигиена выращивания молодняка : практ. рук. / В. А. Медведский, Ф. А. Гасанов. – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 248 с.
3. Медведский, В. А. Гигиена птицы: учеб. пособие / В. А. Медведский, Н. А. Садовов, И. В. Брыло. – Минск : Экоперспектива, 2013. – 156 с.
4. Медведский, В. А. Общая гигиена : учеб. пособие / В. А. Медведский, А. Н. Карташова, И. В. Щебеток. – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 335 с.

Поступила 26.05.2017 г.

УДК 636.39:637.12

**А. И. Бudevич, Е. В. Петрушко, И. С. Петрушко,
Д. А. Шеметков, А. С. Курак, Н. Л. Заремба**

ДИНАМИКА РЕКОМБИНАНТНОГО ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА, ПРОДУЦИРУЕМОГО С МОЛОКОМ КОЗ В РАЗЛИЧНЫЕ СЕЗОНЫ ГОДА

*РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству», г. Жодино, Минская обл., Беларусь*

Введение

В настоящее время молочная железа считается лучшим доступным биореактором для синтеза широкого спектра рекомбинантных белков человека, так как молоко представляет собой безопасный возобновляемый источник сырья, который может быть получен в больших количествах [1].

Молочная железа имеет сложное трубчато-альвеолярное строение с апокриновым типом секреции и состоит из альвеол, которые оканчиваются небольшими выводными протоками. Группы секреторных единиц образуют дольки, которые затем группируются в более крупные структуры, называемые долями, образуя молочную паренхиму. Альвеолы являются основными секреторными компонентами, участвующими в образовании молока и состоят из эпителиальных клеток, способных синтезировать жиры, углеводы и белки, выделяя продукт внутрь просвета альвеол. Белки, секретируемые молочной железой, сгруппированы в два класса: казеины и сывороточные белки. Согласно Y. Park et al. [2], жвачные животные выделяют в основном четыре типа казеинов ($\alpha s1$, $\alpha s2$, β , κ) и два сывороточных белка (β -лактоглобулин и α -лактоальбумин). Гены, кодирующие эти белки, в виде простых копий транскрибируются в молочной железе во время беременности и лактации [3].

Генная конструкция является основным элементом в получении трансгенных животных и состоит, как правило, из гена, который кодирует необходимый белок, промоторной области и других регуляторных элементов для оптимизации экспрессии гена [4]. Трансген, или экзогенный ген, может быть получен от

животного того же или другого вида, либо может быть взят от бактерии, гриба или растения [5]. По данным С. L. Keefer [6], выбор «белка интереса» должен быть основан на социальных, научных и экономических факторах.

Экспрессия трансгена в молочной железе требует использования регуляторных областей генов, кодирующих белки, составляющие мажорную фракцию молока, т. е. последовательностей, которые обеспечивают экспрессию гена только в молочной железе в период лактации [4]. Таким образом, предполагается, что экспрессия рекомбинантного белка будет ограничена молочной железой, чтобы избежать возможного вредного воздействия на организм животного.

Концентрация лактоферрина в молоке млекопитающих различна: в материнском молоке она составляет 1–2 мг/мл, в молоке мыши, кобылы, свиноматки и морских свинок колеблется от 0,2 до 2,0 мг/мл, в молоке коров и коз – от 0,02 до 0,35 мг/мл, а в молоке крыс, кроликов и собак составляет меньше 0,05 мг/мл [7].

Динамика содержания белка и гликопротеинов в коровьем молоке хорошо освещена в литературе [8], однако об изменении белкового профиля молока трансгенных животных, продуцирующих в молоко нетипичный для себя белок в достаточно больших количествах, информации очень мало.

В связи этим теоретические и практические исследования изучения динамики концентрации рекомбинантного лактоферрина человека (рчЛФ) в молоке являются факторами, учет которых позволит более глубоко и всесторонне изучить возможные изменения, происходящие в организме животных-продуцентов.

Материалы и методы исследований

Исследования проводили в лаборатории воспроизводства, трансплантации эмбрионов и трансгенеза животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии Беларуси по животноводству» и на Биотехнологическом научно-экспериментальном производстве по трансгенезу животных (д. Будагово, Минская область) в течение 2016 г. Изучали концентрацию рекомбинантного белка в молоке коз – продуцентов лактоферрина человека (рчЛФ) первой и второй лактации.

Молоко, предназначенное для исследований, было получено от здоровых коз – продуцентов лактоферрина человека первого и второго года лактации ($n = 20$) живой массой 30–40 кг.

Отбор проб молока проводили во время дневной дойки двукратно в каждом исследуемом месяце от каждого животного. Способ доения – в индивидуальный передвижной доильный аппарат. Отбор образцов на исследование осуществляли с первых недель лактации животных, исключая молозивный период.

Аликвоты образцов замораживали и хранили при температуре $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Определение концентрации лактоферрина в исследовании проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) с использованием

фотометра «Multiskan» MCC/340 «Labsystems» (Финляндия). Набор реагентов был предоставлен ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины» (г. Санкт-Петербург).

Полученные результаты были обработаны с помощью приложения Microsoft Office Excel.

Результаты и их обсуждение

Пороговые значения содержания лактоферрина (минимальное и максимальное содержание белка; рис. 1), составили 1,10 и 6,43 г/л для первой лактации и 1,79 и 6,83 г/л для второй лактации соответственно. Вместе с тем пиковые концентрации приходились на июнь (минимум) и декабрь (точка максимума). Месяцы пороговых уровней экспрессии белка были одинаковы. Исходя из полученных данных, среднее значение содержания лактоферрина человека в молоке для обеих групп составило 3,30 г/л для первой лактации и 3,61 г/л для коз второй лактации с увеличением на 9,0 % у второй группы.

Установлено, что в ходе лактации содержание рчЛФ в молоке трансгенных коз изменялось следующим образом: на 10-й день после окончания молозивного периода (март) уровень продукции составил 3,30 г/л для животных первой лактации и 3,22 г/л для второй группы с разницей в 2,4 % в пользу животных первой лактации. В апреле данный показатель в обеих группах снизился и приобрел значения 2,90 и 3,04 г/л для продуцентов первой и второй лактации соответственно. На данном этапе концентрации рчЛФ в молоке выравнивались с небольшим превосходством в 4,6 % у коз второго года, и далее продукция белка выходила на базальный уровень до сентября месяца включительно. В этом временном отрезке также отмечена тенденция превосходства содержания в молоке рекомбинантного белка у коз-продуцентов второго года лактации на 14,2 % в сравнении с продуцентами первого года. Начиная с сентября и до декабря, уровень продукции рекомбинантного лактоферрина возрастал, достигая значений 4,15 г/л для коз первого года и 4,45 г/л для коз второго года с разницей в 6,8 %. Данный факт, вероятно, связан с изменением сезонных ритмов (изменение рациона, подготовка животного к запуску, изменение продолжительности светового дня). В январе отмечалось плавное снижение

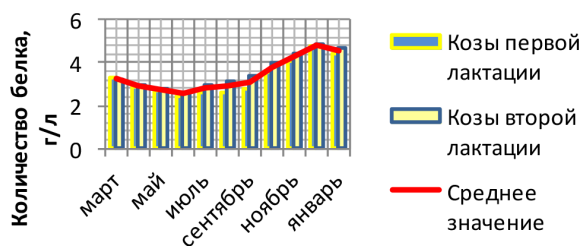


Рис. 1. Изменение динамики содержания рчЛФ в молоке трансгенных коз-продуцентов

уровня рчЛФ у животных первой и второй лактации до 4,44 и 4,68 г/л соответственно.

Выявлено, что козы второй лактации продуцировали с молоком несколько большее количество лактоферрина на 21,0–42,0 % в минимальных (рис. 2) и на 10,0–15,0 % в максимальных значениях (рис. 3). Вероятно, это связано с тем, что животные второй группы в процессе жизни выработали более устойчивую систему регуляции экспрессии внедренных в генотип генетических конструкций по рчЛФ, ответственных за выработку целевого белка, в гармоничном взаимодействии с системами синтеза других нативных (природных) протеинов в молочной железе.

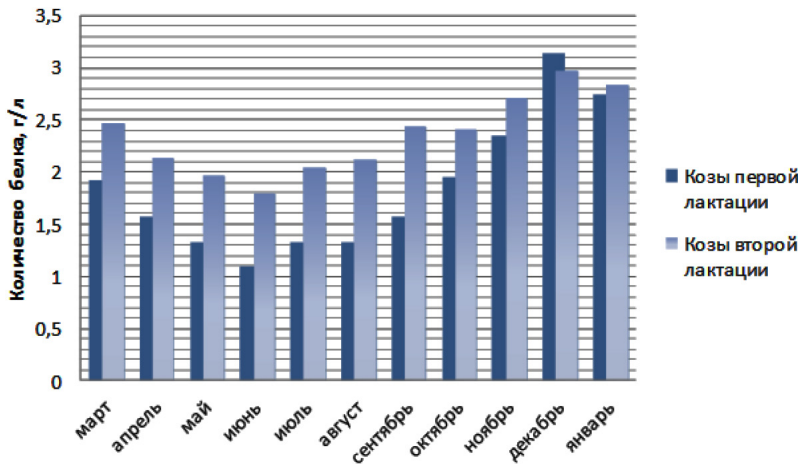


Рис. 2. Изменение динамики минимальных значений содержания рчЛФ в молоке трансгенных коз-продуцентов

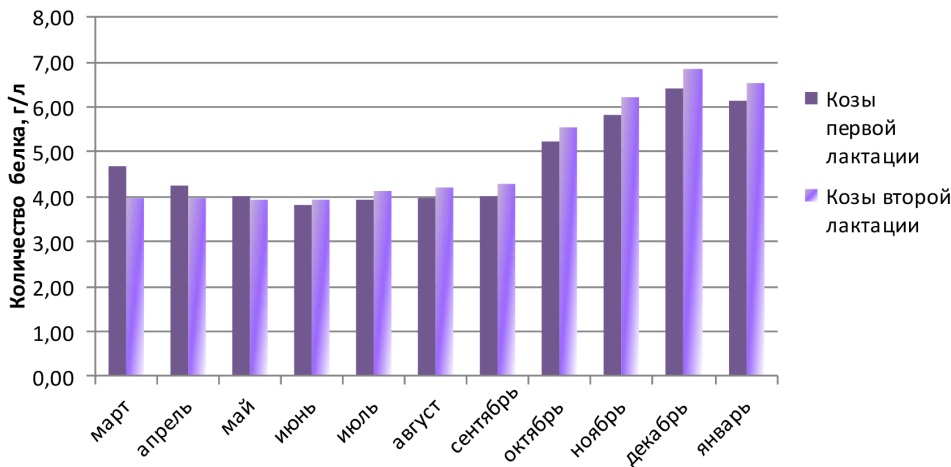


Рис. 3. Динамика максимальных значений содержания рчЛФ в молоке трансгенных коз

В результате проведенных исследований было установлено, что среднее значение уровня содержания лактоферрина для опытных групп животных обеих лактаций составило 3,46 г/л. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей [9].

При анализе динамики минимальных значений (см. рис. 2) было установлено, что показатели рчЛФ первой группы лактации изменяются более резко по отношению к аналогичным показателям коз второй лактации. Наблюдается схожая тенденция снижения продукции рекомбинантного белка в июне (до 1,10 и 1,79 г/л соответственно). Разница в концентрации белка между первой и второй группами составила 21,0 %.

В декабре наблюдался резкий рост количества вырабатываемого белка, где он достиг своего максимума, причем показатель минимальных значений был выше у первой группы коз (3,14 и 2,97 г/л соответственно, разница между показателями составила 6,0 %).

Рис. 3 показывает, что максимальные показатели рчЛФ, полученные от двух групп коз, изменялись более плавно, однако точки экстремума были достигнуты, как и в предыдущем случае, с минимальными значениями в июне и декабре. В июне разница между содержанием рчЛФ первой и второй групп составила 3,2 % (3,81 и 3,94 г/л соответственно), а в декабре показатели различались на 5,8 % (6,43 и 6,83 г/л соответственно).

Заключение

Установлено, что среднее содержание лактоферрина человека в молоке коз-продуцентов первого и второго года лактации составило 3,30 и 3,61 г/л соответственно, с 9,0 %-ным превосходством животных второй группы. Козы второй лактации продуцируют с молоком большее количество лактоферрина: на 21,0–42,0 % в минимальных значениях и на 10,0–15,0 % – в максимальных.

Результаты проведенных исследований могут быть использованы при разведении сельскохозяйственных животных, продуцирующих с молоком нетипичный белок.

Литература

1. Colman, A. Production of proteins in the milk of transgenic livestock: problems, solutions, and successes / A. Colman // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1996. – Vol. 63 (4). – P. 639S–645S.
2. Physicochemical characteristics of goat and sheep milk / Y. Park [et al.] // *Small Rumin. Res.* – 2007. – Vol. 68. – P. 88–113.
3. Clark, A. J. The mammary gland as a bioreactor: expression, processing and production of recombinant proteins / A. J. Clark // *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* – 1998. – Vol. 3 (3). – P. 337–350.
4. Maga, E. A. Mammary gland expression of transgenes and the potential for altering the properties of milk / E. A. Maga, J. D. Murray // *Biotechnology (NY).* – 1995. – Vol. 13. – P. 1452–1456.
5. Aplicaxes dos animais transgênicos / J. Pesqueiro [et al.] // *Scientific Amer. Bras.* – 2007. – Vol. 56. – P. 78–85.
6. Keefer, C. Production of bioproducts through the use of transgenic animal models / C. Keefer // *Anim. Reprod. Sci.* – 2004. – Vol. 82–83. – P. 5–12.

7. Hyvönen, P. Lactoferrin in Bovine Intramammary Infection: academic dissertation [To be presented, with the permission of the Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, for public examination 2, Helsinki, on 15 October 2010 at 12 noon] / Paula Hyvönen ; Department of Production Animal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki. – Helsinki, 2010. – 78 p.

8. Циновой, А. В. Физиологические изменения состава молока коров в зависимости от возраста, периода лактации при первичных нарушениях функции молочной железы : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13 / А. В. Циновой ; Харьковская гос. зоовет. акад. – Харьков, 2003. – 26 с.

9. Hiss, S. Lactoferrin concentrations in goat milk throughout lactation / S. Hiss, T. Meyer, H. Sauerwein // Small Ruminant Research. – 2008. – Vol. 80. – P. 87–90.

Поступила 20.07.2017 г.

УДК 636.087

**Н. А. Головнева², Л. В. Романова², А. С. Андрусевич¹,
А. Ю. Финогенов¹, М. М. Мистейко¹**

**АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
МИКРОБНЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ
РОДОВ *BIFIDOBACTERIUM* И *LACTOBACILLUS*,
ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СОСТАВЕ
КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ДЛЯ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ**

¹РУП «Институт экспериментальной ветеринарии
имени С. Н. Вышелесского», г. Минск, Беларусь

²Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь

Введение

Среди всех патологий пушных зверей, обусловленных технологией содержания, кормления и использования, наибольший удельный вес занимают заболевания, обусловленные контаминацией корма патогенными, условно патогенными микроорганизмами и их токсинами. Широкое применение в звероводстве антибактериальных препаратов часто приводит к возникновению дисбиозов различной степени интенсивности и, как следствие, к значительным экономическим потерям в результате снижения продуктивности, непроизводительного выбытия и падежа пушных зверей, особенно молодняка. В связи с этим одной из задач современного сельскохозяйственного производства является коррекция микробной экологии желудочно-кишечного тракта животных. В этом отношении перспективны бактериальные препараты и кормовые добавки на основе эубиотических и пробиотических штаммов микроорганизмов. Лечебно-профилактическое действие препаратов, получаемых с помощью бактерий рода *Lactobacillus*, известно со времен народной медицины.

В настоящее время разработано значительное количество препаратов-пробиотиков, включающих в свой состав те или иные штаммы лактобацилл (*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. casei* и др.), лечебно-профилактический эффект которых связан, прежде всего, с подавлением роста патогенных и условно патогенных микроорганизмов, включая ингибирование биосинтеза афлатоксина *Aspergillus flavus*, индуцирующего развитие гепатокарцином [1].

Антагонистическая активность лактобактерий в отношении патогенных и условно патогенных микробов обусловлена не только продукцией бактериоцинов, лизоцима, перекиси водорода, молочной, уксусной и других органических кислот и метаболитов, снижающих pH среды, но и конкуренцией за сайты прикрепления на слизи и слизистых оболочках различных отделов желудочно-кишечного тракта животных. Бактериальные пробиотические препараты являются многофакторным средством, характеризующимся не только антагонистической активностью и конкурентным вытеснением условно патогенных микроорганизмов, но и иммуностимулирующим действием, связанным с участием в поддержании рабочего состояния специфических и неспецифических гуморальных и клеточных механизмов иммунитета [2]. Установлено, что под влиянием лактобактерий изменялись следующие показатели иммунитета: усиливалась активность клеток моноцитарно-макрофагального ряда, фагоцитоз, активность натуральных киллеров, увеличивалась продукция сывороточных иммуноглобулинов и интерферона, стимулировались реакции Т-клеточного иммунитета. Пробиотики используют также для замены антибиотиков в комбикормах для молодняка животных, пушных зверей и птицы, повышения эффективности использования корма и продуктивности животных. Несмотря на наличие в арсенале ветеринарных специалистов ряда лечебно-профилактических средств, во всем мире продолжается работа по созданию новых биопрепаратов с использованием активных штаммов-продуцентов [2–4].

С целью отбора наиболее эффективных молочнокислых бактерий, перспективных для использования в составе кормовой добавки для пушных зверей, проведено исследование антагонистической активности микробных композиций, включающих штаммы бактерий родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, по отношению к возбудителям бактериальных заболеваний.

Материалы и методы исследований

Объекты исследования – молочнокислые бактерии родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, а также экспериментальные образцы микробных композиций, полученные на основе отобранных культур микроорганизмов.

Молочнокислые бактерии поддерживали на стандартной питательной среде MRS [5] или молоке, бифидобактерии – на модифицированной среде MRS с лактозой и цистеином. Глубинное культивирование исследуемых штаммов осуществляли отдельно при температуре 30,0...37,0 °C на соответствующих

питательных средах. Количество жизнеспособных клеток бактерий в 1 мл суспензии (число колониеобразующих единиц – КОЕ/мл) определяли методом предельных разведений при высеве на полуагаризованные питательные среды с 0,2 % агара.

Антагонистическую активность контролировали методом диффузии в агар [6], измеряя зоны задержки роста (мм), образовавшиеся вокруг лунок. Тест-штаммами служили грамположительные и грамотрицательные патогенные бактерии *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella choleraesuis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus egui*, *Streptococcus suis*, *Staphylococcus aureus*, *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli*, *Escherichia fergusonii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, а также дрожжевые грибы *Candida famata*.

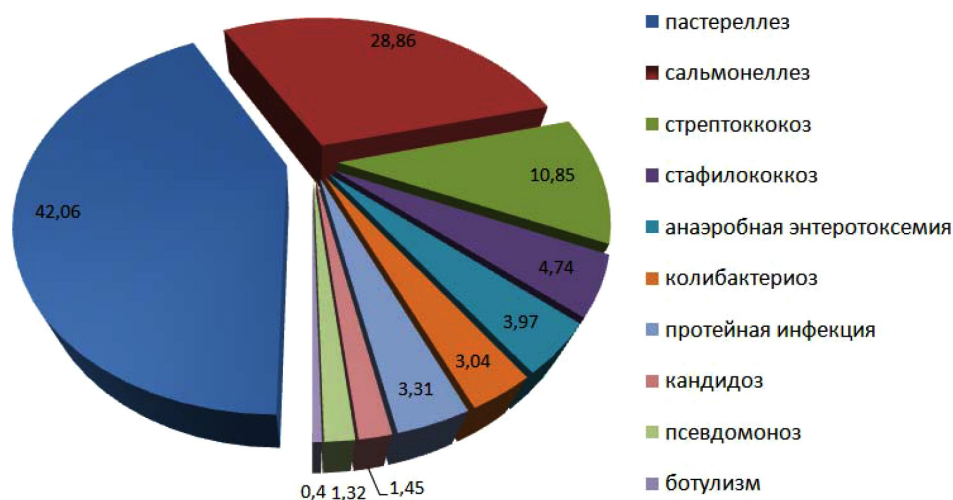
Результаты и их обсуждение

Для разработки эффективных мероприятий по профилактике инфекционных заболеваний пушных зверей необходимо основываться на знании конкретной эпизоотической ситуации по бактериозам в зависимости от этиологической структуры заболеваний и антигенной характеристики возбудителя. Изучение этиологической структуры бактериальных инфекций дает возможность выяснить причины возникновения болезни и разработать эффективные способы специфической профилактики.

В хозяйствах на относительно небольших площадях концентрируется большое количество пушных зверей, из года в год выращиваемых на мех. При этом происходит постепенное накопление инфекции, которая проявляется в виде вспышек заболеваний. Бактериологические исследования пушных зверей, проведенные в звероводческих хозяйствах республики в течение 2004–2017 гг., свидетельствуют о значительном распространении бактериальных заболеваний среди пушных зверей разных возрастных групп. Источником инфекции являются больные животные и бактерионосители.

Наиболее интенсивно в этиологической структуре заболеваний пушных зверей представлен (см. рисунок) возбудитель пастереллеза – 42,06 % от всей инфекционной патологии, затем по распространению идут возбудители: сальмонеллеза – 28,86; стрептококкоза – 10,85; стафилококкоза – 4,74; анаэробной энтеротоксемии – 3,97; колибактериоза – 3,04; протейной инфекции – 3,31; кандидоза – 1,45; псевдомоноза – 1,32; ботулизма – 0,4 %.

При анализе заболеваемости возрастных групп пушных зверей бактериальными заболеваниями установлено, что к ним восприимчиво поголовье как в возрасте до 2 месяцев, так и взрослые пушные звери. При этом процент выделения заболеваемости от щенков до двухмесячного возраста составляет 5,97 %, у взрослых – 14,15 %. Наиболее восприимчивым является поголовье пушных зверей с 2 до 5 месяцев: процент заболеваемости достигал 53,77 %.



Процент выделения возбудителей инфекционных болезней пушных зверей в звероводческих хозяйствах Республики Беларусь

Взрослые животные болеют реже молодняка, и чаще отмечается хроническое течение болезни. Процент заболеваемости пушных зверей в возрасте от 5 до 7 месяцев составляет 26,11 %.

В состав пробиотической кормовой добавки для пушных зверей отобраны культуры микроорганизмов родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, соответствующие требованиям безопасности, безвредности, наличия пробиотических свойств. Отобранные культуры бифидобактерий и молочнокислых бактерий *B. adolescentis*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *Lactobacillus* sp. характеризуются кислото- и желчустойчивостью, обладают высокой скоростью роста и кислотообразования, проявляют антагонизм по отношению к тест-культурам патогенных и условно патогенных бактерий. На основании исследования физиолого-биохимических свойств установлен спектр сбраживаемых углеводов, охарактеризована аэротолерантность и способность к седиментации отдельных штаммов.

С учетом исследованных свойств бактерий составлены консорциумы, включающие культуры бифидобактерий и лактобацилл. Нарботаны семь экспериментальных образцов кормовой добавки для пушных зверей с титром жизнеспособных клеток от $2 \cdot 10^9$ до $7 \cdot 10^9$. Результаты исследований антагонистической активности разработанных бактериальных композиций представлены в таблице.

Показано также усиление антагонистической активности экспериментальных образцов комплексных препаратов, содержащих бактерии разных видов, по сравнению с монокультурами. Данные образцы бактериальных консорциумов испытали на белых мышах. Все образцы являются безвредными для этих животных.

Антагонистическая активность разработанных бактериальных консорциумов

№ п/п	Тест-штаммы	Образец кормовой добавки						
		1	2	3	4	5	6	7
1.	<i>Salmonella dublin</i>	10	12	12	12	10	10	12
2.	<i>Salmonellatyphimurium</i>	13	13	13	11	13	11	12
3.	<i>Salmonellacholeraesuis</i>	10	13	12	11	12	11	12
4.	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0	7	7	7	0	0	0
5.	<i>Proteus mirabilis</i>	0	8	7	6	0	0	0
6.	<i>Streptococcus equi</i>	0	13	12	11	0	0	0
7.	<i>Streptococcus suis</i>	10	13	14	0	10	0	0
8.	<i>Staphylococcus aureus</i>	10	11	10	10	10	10	10
9.	<i>Pasteurellamultocida</i>	14	14	13	14	12	13	12
10.	<i>Escherichia coli</i>	0	0	10	10	0	0	0
11.	<i>Candida famata</i>	10	0	0	0	0	10	0
12.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	12	11	11	11	10	11
13.	<i>Escherichia fergusonii</i>	0	7	7	6	0	0	0
14.	<i>Klebsiellaoxytoca</i>	10	11	10	10	10	10	10

Выводы

1. Среди бактериальных инфекций пушных зверей в звероводческих хозяйствах Республики Беларусь ведущее место занимает пастереллез и составляет 42,06 % от всей инфекционной патологии, затем по распространению идет возбудитель сальмонеллеза – 28,86 %.

2. Уровень заболеваемости зависит от возраста пушных зверей, наиболее восприимчивым к болезням является молодняк в возрасте от 2 до 5 месяцев.

3. В состав пробиотической кормовой добавки для пушных зверей отобраны культуры бактерий родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*. Проведены исследования антагонистической активности разработанных бактериальных композиций по отношению к возбудителям бактериальных заболеваний и показано, что наиболее эффективными являются экспериментальные образцы № 2, 3, 4.

4. Установлена безвредность всех исследуемых образцов для белых мышей.

Литература

1. Дисбактериозы – актуальная проблема медицины / А. А. Воробьев [и др.] // Вестн. Рос. акад. мед. наук. – 1997. – № 3. – С. 4–7.
2. Бондаренко, В. М. Ранние этапы развития инфекционного процесса и двойственная роль нормальной микрофлоры / В. М. Бондаренко, В. Г. Петровская // Вестн. Рос. акад. мед. наук. – 1997. – № 3. – С. 7–10.
3. Colonisation of poultry by *Salmonella enteritidis* S1400 is reduced by combined administration of *Lactobacillus salivarius* 59 and *Enterococcus faecium* PXN-33 / A. Carter [et al.] // Veterinary Microbiology. – 2017. – Vol. 199. – P. 100–107.

4. Chaucheyras-Durand, F. Probiotics in animal nutrition and health / F. Chaucheyras-Durand, H. Durand // *Benef. Microbes.* – 2010. – Vol. 1, № 1. – P. 3–9.

5. Man, J. C. A medium for the cultivation of *Lactobacilli* / J. C. Man, M. Rogosa, M. E. Sharpe // *J. Appl. Bacteriol.* – 1960. – Vol. 23, № 1. – P. 130–135.

6. Егоров, Н. С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности / Н. С. Егоров. – М. : Высш. шк., 1965. – 211 с.

Поступила 27.07.2017 г.

УДК 615.27:576.7

Б. Б. Трефилов, А. В. Святковский, А. А. Святковский

ВЛИЯНИЕ МИТОФЕНА НА КЛЕТКИ ТКАНЕВОЙ КУЛЬТУРЫ

*Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт
птицеводства – филиал ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский
технологический институт птицеводства РАН»,
г. Санкт-Петербург – Ломоносов, Россия*

В последние десятилетия в медицине уделяется большое внимание средствам коррекции нарушений антиоксидантной системы организма. Среди них хорошо известны аскорбиновая кислота, токоферолы, каротиноиды, убихинон, флавоноиды, селенсодержащие препараты и многие другие. Сравнительно новыми, обладающими антиоксидантными свойствами, являются некоторые соединения полифенольной структуры, в частности натриевая соль [поли(2,5-дигидрооксифенилен)-4-тиосульфокислоты] (митофен). В экспериментальных условиях на биологических моделях отмечена способность полифенолов влиять на дыхательные цепи в митохондриях, оптимизируя их деятельность. На клеточном и организменном уровнях у них выявлены антигипоксанта́ные и антиоксидантные свойства, характерные для природных хинонов (в частности, коэнзима Q₁₀), только в ряде случаев более отчетливые [1]. Так как эти свойства полифенольных антиоксидантов могут быть полезны и востребованы в промышленном птицеводстве, нами были проведены соответствующие исследования [2].

Помимо токсикологической оценки действия митофена на организм цыплят-бройлеров и кур несушек было исследовано его влияние на микробные клетки [3]. При этом в модельных опытах *in vitro* было установлено, что в концентрациях, которые могут возникать в желудке и кишечнике животных при скармливании митофена, он не оказывает отрицательного воздействия на симбионтную микрофлору.

Следующей задачей исследований стало изучение влияния этого вещества на соматические клетки макроорганизма. Для ее решения нами были проведены модельные опыты по испытанию митофена на определение токсических и ростостимулирующих эффектов в культурах клеток куриных и утиных эмбрионов.

В опытах использовали стерильный раствор митофена в разведениях от 10^{-2} до 10^{-7} . 10-кратные разведения препарата готовили на среде Игла МЕМ (minimal essential medium). По 1,0 см³ каждого разведения митофена вносили в четыре пробирки с культурой куриных и утиных фибробластов, предварительно удалив ростовую среду. Культуру клеток инкубировали при температуре $37 \pm 0,5$ °С. Влияние митофена учитывали через 48 ч после его внесения.

Контролем служила культура клеток, инкубируемая в аналогичных условиях без добавления митофена. В процессе проведения испытаний установлено, что митофен в разведениях 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} оказывал цитопатогенное действие на клетки, проявляющееся клеточной дегенерацией, которая выражалась в округлении клеток, появлении зернистости в цитоплазме и нарушении формирования монослоя клеток.

Митофен в разведении 10^{-5} вызывал менее выраженный цитопатический эффект. В разведениях 10^{-6} и 10^{-7} препарат вызывал стимулирующее действие на репродукцию клеток и лучшее формирование клеточного монослоя относительно контроля, что выражалось в количественном увеличении клеток на 25,0–30,0 % за одинаковый промежуток времени по сравнению с контролем.

Для подтверждения данного явления в культуры клеток инокулировали реовирус птиц (культура куриных фибробластов) и вирус гепатита утят (культура утиных фибробластов) с последующим титрованием вирусов в соответствующих культурах клеток.

Установлено, что в культурах клеток, в которых в суспензию добавляли митофен в разведениях 10^{-6} и 10^{-7} (что соответствует терапевтическому и субтерапевтическому диапазону концентраций для макроорганизмов – 1,0 и 0,1 мг/л) происходило накопление вирусов на 0,5 и 1,0 lg ТЦД₅₀ больше по сравнению с контролем, где препарат отсутствовал.

Естественно, что состояние любой живой клетки, ее резистентность существенно зависит, как минимум, от ее способности поддерживать весь спектр параметров энергетического баланса внутренней среды: питательные вещества (углеводы, аминокислоты, триглицериды), минералы (преимущественно, ионы и комплексные соединения солей натрия, кальция, калия, магния и др.). Этот минимум взаимобразно обеспечивается способностью клетки осуществлять и регулировать все метаболические реакции, направленные на ее существование, рост и размножение. Эффективность метаболических процессов зависит от соблюдения многих условий внутренней и внешней среды. Одним из важнейших интегральных показателей благополучного функционирования клетки является ее жизнеспособность, выражающаяся в росте и размножении. В отношении тканевых культур это еще и способность создавать качественный монослой в соответствующих (содержащих оптимальный состав питательных веществ) средах [4].

Данное исследование наглядно показало отсутствие негативного эффекта митофена на рост соматических клеток (куриных и утиных фибробластов) в концентрациях, соответствующих диапазону доз (от 0,1 до 10,0 мг/кг), получаемых птицей при применении исследуемого вещества в кормовых смесях.

Литература

1. Медведев, Ю. В. Гипоксия и свободные радикалы в развитии патологических состояний организма / Ю. В. Медведев, А. Д. Толстой. – М. : ООО «Терра-Календер и Промоушен», 2000. – 232 с.
2. Святковский, А. В. Определение оптимальных доз митофена при выращивании цыплят / А. В. Святковский, П. С. Рябцев // Актуальные вопросы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармации : материалы IV съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов России. – М., 2013. – С. 504–508.
3. Святковский, А. А. Влияние митофена на рост симбионтной микрофлоры / А. А. Святковский, Л. А. Дзявго, А. В. Святковский // Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Санкт-Петербург, 30–31 окт. 2014 г. – СПб. : Изд-во «Любавич», 2014. – С. 176–178.
4. Голубев, Д. Б. Руководство по применению клеточных культур в вирусологии / Д. Б. Голубев, А. А. Соминина, М. Н. Медведева. – Л. : Медицина, 1976. – 224 с.

Поступила 26.06.2017 г.

УДК 636.4:(612.128-129)

М. Р. Ключук¹, В. В. Данчук², А. В. Данчук²

СОДЕРЖАНИЕ ОСНОВАНИЙ ШИФФА В ЭРИТРОЦИТАХ КРОВИ СВИНЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ НАНОПРЕПАРАТА Zn, Fe, Ge И МИЦЕЛЛЯРНОЙ ФОРМЫ ТОКОФЕРОЛА

*¹Подольский государственный аграрно-технический университет,
г. Каменец-Подольский, Хмельницкая обл., Украина*

*²Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
г. Киев, Украина*

Введение

Активные формы кислорода в организме обеспечивают синтез биологически активных веществ, фагоцитоз, детоксикацию, митоз, апоптоз, изменение липидного и белкового компонентов клеточных мембран и т. д. [1], причем образуются преимущественно в процессе клеточного дыхания и поэтому напрямую связаны с физиологической активностью клетки. Вторичные продукты пероксидации, такие как малоновый диальдегид и триеновые конъюгаты, являются токсичными для организма. Они обезвреживаются путем взаимодействия с аминокруппами различных органических соединений (аминокислоты, простые и сложные белки, нуклеотиды, гормоны, витамины) с образованием оснований Шиффа [2, 3].

Нанотехнологии в ветеринарной медицине представляют собой современную перспективную отрасль. Наночастицы биогенных металлов, в частности Zn, Fe, Ge, обладают более сильным стимулирующим эффектом, чем их моле-

кулярные формы [4]. Жирорастворимый витамин Е, представленный в водно-дисперсной (мицеллярной) форме имеет высокую биодоступность, быстро всасывается и активно используется в процессах обмена веществ. Мицеллярная система является нетоксичной и продемонстрировала хорошие результаты в испытаниях на белых мышах [5]. Исследования последних лет показывают, что применение нанопрепарата биогенных металлов для коррекции обмена веществ перспективно, однако его влияние на интенсивность перекисидного окисления липидов в организме свиней не выяснено. Следовательно, проведение комплексных исследований по изучению влияния нанопрепаратов Zn, Fe, Ge и мицеллярной формы токоферола на перекисное окисление липидов является актуальным, поскольку позволит разработать новые методы повышения производительности и резистентности животных.

Цель и задачи работы – исследовать интенсивность перекисного окисления липидов в организме свиней разного возраста при введении нанопрепаратов Zn, Fe, Ge и мицеллярной формы токоферола.

Материалы и методы исследований

Опыт проходил на свиноферме научно-производственного центра «Подолье» Подольского государственного аграрно-технического университета. Для постановки данного опыта было проведено три серии исследований на свиньях крупной белой породы соответственно возрасту 30, 60, 90, 120, 150 и 180 дней. Свиней содержали согласно существующим нормам и животные были клинически здоровы. Было подобрано четыре группы свиней разного возраста (по 10 голов в каждой). Опыт проводили согласно представленной схеме (табл. 1).

Таблица 1. Схема опыта

Группа животных			
Контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
–	Внутримышечно 2,5 мл нанопрепарата Zn, Fe и Ge	Выпойка мицеллярного раствора витамина Е в дозе 2 мл/кг	Нанопрепарат Zn, Fe, Ge и с водой мицеллярная форма токоферола

Животным первой опытной группы внутримышечно вводили комплексный нанопрепарат микроэлементов (Zn, Fe, Ge) в количестве 2,5 мл. Нанопрепарат микроэлементов Zn, Fe, Ge представляет собой цитраты данных металлов, полученных с помощью эрозионно-взрывной нанотехнологии. В качестве комплексообразователя выступают наночастицы с поверхностным электрическим зарядом со знаком «минус», а в роли лигандов – молекулы воды или других химических элементов [6]. По структуре строение наночастиц подобно анионному хелатному комплексу из-за наличия поверхностного электрического заряда со знаком «минус», но при этом исключаются токсические проявления из-за отсутствия аниона. Препарат нанометаллов предоставлен ООО «Наноматериалы и нанотехнологии» (г. Киев).

Свиньям второй опытной группы выпаивали витаминную кормовую добавку в виде водного мицеллярного раствора витамина Е в дозе 2 мл/кг массы тела. Данная мицеллярная система нетоксична и продемонстрировала хорошие результаты в испытаниях на белых мышах. Для доставки витамина Е в организм использовали мицеллы блок-сополимеров на основе метоксиполиэтиленоксида и полиакриловой кислоты, которые являются эффективными наноконтейнерами для инкапсуляции и обеспечивают возможность снижения активной концентрации витамина Е при сохранении эффективности его действия [7].

Животным третьей опытной группы внутримышечно вводили комплексный нанопрепарат микроэлементов (Zn, Fe, Ge) и выпаивали мицеллярную форму токоферола в вышеприведенных дозах. Материалом для исследований послужили образцы крови, отобранные через 7 сут. после введения нанопрепарата и выпойки витамина. В гемолизатах эритроцитов поросят определяли содержание оснований Шиффа по И. А. Волчегорскому с соавт. [8].

Результаты и их обсуждение

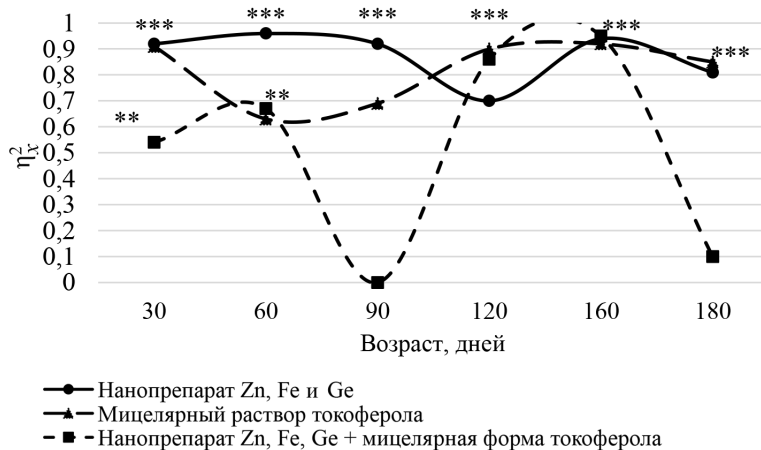
Проведенные исследования показывают, что введение нанопрепаратов Zn, Fe и Ge поросётам разного возраста способствует накоплению оснований Шиффа в эритроцитах крови поросят (табл. 2). Установлено увеличение содержания оснований Шиффа в эритроцитах крови поросят 1-, 2-, 3-, 4- и 6-месячного возраста I опытной группы на 22,0 ($p < 0,001$), 31,9 ($p < 0,001$), 26,8 ($p < 0,001$), 5,7 ($p < 0,01$), 10,9 % ($p < 0,001$) соответственно. Зато у поросят 5-месячного возраста I опытной группы содержание оснований Шиффа было ниже на 17,1 % ($p < 0,001$) такового у животных контрольной группы на данном периоде онтогенеза.

Выпойка поросётам мицеллярной формы токоферола способствовала достоверному снижению содержания оснований Шиффа в эритроцитах крови поросят на 5,6–22,0 % ($p < 0,05–0,001$) в зависимости от возраста животных.

Таблица 2. Содержание оснований Шиффа в эритроцитах крови свиней,
 $E_{400}/E_{220} (M \pm m, n = 5)$

Возраст, дней	Группа животных			
	контрольная	I опытная	II опытная	III опытная
30	0,091 ± 0,002	0,111 ± 0,001***	0,071 ± 0,001***	0,084 ± 0,001**
60	0,091 ± 0,002	0,120 ± 0,001***	0,083 ± 0,001**	0,083 ± 0,001**
90	0,071 ± 0,001	0,090 ± 0,002***	0,067 ± 0,002*	0,071 ± 0,001
120	0,087 ± 0,001	0,092 ± 0,001**	0,081 ± 0,001***	0,080 ± 0,001***
150	0,111 ± 0,001	0,092 ± 0,001***	0,092 ± 0,001***	0,089 ± 0,001***
180	0,101 ± 0,002	0,112 ± 0,001***	0,090 ± 0,001***	0,103 ± 0,001

Примечание. Разница с показателями контрольной группы животных достоверна при * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.



Влияние нанопрепаратов Zn, Fe, Ge и мицеллярной формы токоферола на содержание оснований Шиффа в эритроцитах крови свиней ($\eta^2_x, n = 5$). Показатель достоверен при $*p < 0,05$; $**p < 0,01$; $***p < 0,001$

Следует отметить, что комплексное введение нанопрепаратов Zn, Fe, Ge и мицеллярной формы токоферола имело меньшее влияние, чем их отдельное использование на содержание оснований Шиффа в эритроцитах крови поросят. Так, содержание основ Шиффа в эритроцитах крови 1-, 2-, 4- и 5-месячных поросят III опытной группы было на 7,7 ($p < 0,01$), 8,8 ($p < 0,01$), 8,0 ($p < 0,001$), 19,8 % ($p < 0,001$) достоверно ниже такового у животных контрольной группы на данном этапе онтогенеза.

Результаты проведенного дисперсионного анализа влияния нанопрепаратов Zn, Fe, Ge и мицеллярной формы токоферола на содержание диеновых конъюгатов в эритроцитах крови свиней представлены на рисунке. Введение нанопрепаратов Zn, Fe и Ge проявляет достоверную силу влияния на содержание оснований Шиффа в эритроцитах крови в течение всего периода исследований – $\eta^2_x = 0,70\text{--}0,96$ ($p < 0,01\text{--}0,001$).

Установлено, что выпойки поросятам разного возраста мицеллярной формы токоферола также влияют на содержание оснований Шиффа в эритроцитах крови в течение всего периода исследований, однако в несколько более низкой степени: $\eta^2_x = 0,63\text{--}0,92$ ($p < 0,01\text{--}0,001$).

Как свидетельствуют полученные результаты, введение нанопрепарата биогенных металлов вместе с выпойкой мицеллярной формы витамина E в меньшей степени влияет на содержание оснований Шиффа в эритроцитах крови поросят, чем их отдельное использование. В частности, сила воздействия введения нанопрепаратов Zn, Fe, Ge и мицеллярной формы токоферола на содержание оснований Шиффа в эритроцитах крови поросят 1-, 2-, 5- и 6-месячного возраста составляла: $\eta^2_x = 0,54$ ($p < 0,05$), $\eta^2_x = 0,67$ ($p < 0,01$), $\eta^2_x = 0,86$ ($p < 0,05$) и $\eta^2_x = 0,95$ ($p < 0,01$) соответственно.

Заклучение

Полученные данные свидетельствуют о достоверном влиянии выпойки мицеллярной формы токоферола и введения нанопрепаратов Zn, Fe, Ge поросатам разного возраста на содержание оснований Шиффа в эритроцитах их крови. Введение нанопрепаратов Zn, Fe, Ge способствует повышению шиффообразования в эритроцитах крови поросят, тогда как выпаивание мицеллярной формы токоферола способствует снижению содержания данного метаболита в эритроцитах.

Полученные результаты исследований позволят разработать способ коррекции интенсивности пероксидного окисления липидов у свиней разного возраста.

Литература и источники

1. Владимиров, Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Наука, 1972. – 252 с.
2. Бурлакова, Е. Б. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты. Успехи химии 54.9. – Е. Б. Бурлакова. – М., 1985. – С. 1540–1558.
3. Конторщикова, К. Н. Перекисное окисление липидов в норме и патологии / К. Н. Конторщикова. – Нижний Новгород, 2000. – С. 14–39.
4. Нанотехнологія у ветеринарній медицині : посіб. для студ. аграр. закл. освіти I–IV рівней акредитації / Б. В. Борисович, В. Г. Каплуненко [та інш.]. – К. : ТОВ «Наноматеріали і нанотехнології», 2009. – 232 с.
5. Water-soluble form of Vitamin E in metabolism processes of warm-blood animals [Electronic resource] / V. Maksin [et al.] // NUBiP of Ukraine and GCHERA, Int. Sci. Electronic J. «Earth Bioresources and Life Quality». – 2013. – Mode of access: <http://gchera-ejournal.nubip.edu.ua/index.php/ebql>. – Date of access: 17.07.2017.
6. До створення мікроелементних композицій на основі функціональних нанобіоматеріалів : бібліографія / В. А. Копілевич [та інш.] // Біоресурси і природокористування. – 2010. – Т. 2, № 1/2. – С. 22–27.
7. Водорозчинна форма вітаміну Е в процесах метаболізму теплокровних тварин / В. І. Максін [та інш.] // Наук. доп. Нац. ун-ту біоресурсів і природокористування України. – 2014. – № 7.
8. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма / И. А. Волчегорский [и др.]. – Челябинск : Изд-во Челябинского гос. пед. ун-та, 2000. – 167 с.

Поступила 21.07.2017 г.

У. И. Тесаривская

**РЕПРОДУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ САМОК КРЫС F_2
ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКОЙ И ВЫСОКОЙ ДОЗ
НАНОГЕРМАНИЯ ЦИТРАТА**

*Государственный научно-исследовательский контрольный институт
ветеринарных препаратов и кормовых добавок, г. Львов, Украина*

Введение

Научно и экспериментально подтверждена важная роль германия в обеспечении жизненно важных функций организма человека и животных. Он необходим для насыщения организма кислородом, что положительно влияет на работу иммунной системы, также принимает активное участие в процессе очищения организма от ядов и шлаков. Широкое применение на практике соединений германия в медицине, биологии и ветеринарии стало предметом для более глубокого изучения свойств этого элемента [4].

Переноса кислород, он предупреждает развитие кислородной недостаточности на тканевом уровне, следовательно, уменьшает риск развития кровяной гипоксии, возникающей на фоне уменьшения уровня гемоглобина в эритроцитах. Наиболее чувствительны к кислородной недостаточности головной мозг, мышцы сердца, ткани почек и печени. Его способность обеспечивать перенос кислорода в тканях может иметь существенное значение для животных в период беременности и лактации [3].

Особый научный интерес вызывает изучение действия различных доз германия цитрата, полученного методом нанотехнологий, поскольку данное соединение обладает низким уровнем токсичности при высокой усвояемости и биодоступности [1]. Проведенные нами исследования на самках крыс F_1 показали стимулирующее действие этого соединения как на репродуктивную функцию самок, так и на жизнеспособность приплода [5].

Цель исследований – изучить особенности влияния наногермания цитрата на организм самок крыс F_2 и развитие потомства F_3 .

Материалы и методы исследований

Опыты проводили на белых лабораторных крысах обоего пола, которых содержали в виварии ГНИКИ ветпрепаратов и кормовых добавок. Животные находились в стандартных условиях с естественным световым режимом (день/ночь), водные растворы цитрата Ge, воду и корм получали *ad libitum*. Исследования проведены при соблюдении общих этических принципов экспериментов на животных в соответствии с «Европейской Конвенцией о защите

позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» и постановления Первого национального конгресса Украины по биоэтике.

Самкам в поколениях F_0 , F_1 и F_2 выпаивали с водой различные концентрации наногермания цитрата (HGeЦ) в течение физиологического и полового созревания, оплодотворения, беременности и вскармливания потомства. Влияние цитрата германия на развитие крысят F_3 изучали на потомстве от 15 самок и 4 самцов. Животным опытных групп (матерям вместе с потомством) выпаивали водные растворы HGeЦ в следующих дозах: 2-я группа (5 самок) – 20 мкг Ge/кг массы тела, 3-я группа (6 самок) – 200 мкг Ge/кг массы тела. Контрольные животные (1-я группа – 4 самки и 4 самца-производителя) имели постоянный доступ к питьевой воде.

Репродуктивную функцию самок F_2 и их потомство F_3 оценивали по их физическому состоянию и развитию плодов (количество плодов и их краниокаудальный размер, масса приплода, количество самок и самцов F_3). Контролировали массу тела крысят от рождения до 37-суточного возраста (до отлучки). Молочность самок определяли по развитию приплода (разница между показателями массы тела крысят при рождении и массой тела на день отлучки). В основу организации исследований по изучению действия HGeЦ на потомство положены методические рекомендации, изложенные в справочнике «Доклинические исследования ветеринарных лекарственных средств» [2].

Полученный цифровой материал обрабатывали в программе Microsoft Excel и вычисляли статистические характеристики параметров.

Результаты и их обсуждение

Ежедневная выпойка с водой HGeЦ проявлялась увеличением фертильности самок по отношению к контрольной группе: у животных 2-й группы – на 5,0 % и у животных 3-й группы – на 8,0 %. Увеличилась и продолжительность беременности у животных 2-й группы – на 4,9 % и у животных 3-й группы – на 3,6 %, что подтверждено статистической достоверностью. Количество крысят (на самку) у животных 2-й группы было выше на 13,3 %, у животных 3-й группы – на 35,6 %. Повышение многоплодия самок 2-й и 3-й групп приводило к увеличению, по сравнению с животными контрольной группы, средней массы помета на 18 и 27 г (37,0 и 55,4 %) соответственно. Результаты указывают на стимулирующее влияние как низкой, так и высокой дозы HGeЦ на плодовитость животных. Результаты, которые получены от влияния высокой концентрации препарата, являются статистически достоверными. Процентное соотношение в гнезде самок к самцам у животных 2-й группы совпадает с контрольной группой – большее количество самцов. У животных 3-й группы в помете преобладают самки. Средняя масса крысят при рождении у животных обеих опытных групп была выше контроля. При воздействии низкой концентрации HGeЦ она увеличивалась на 19,3 %, высшей – на 5,3 %. Эта закономерность наблюдается и в отношении краниокаудальных размеров крысят:

в помете животных 2-й группы величина новорожденных на 19,4 % больше, чем в контроле, а 3-й группы – на 11,1 % (результаты статистически достоверны) (см. таблицу).

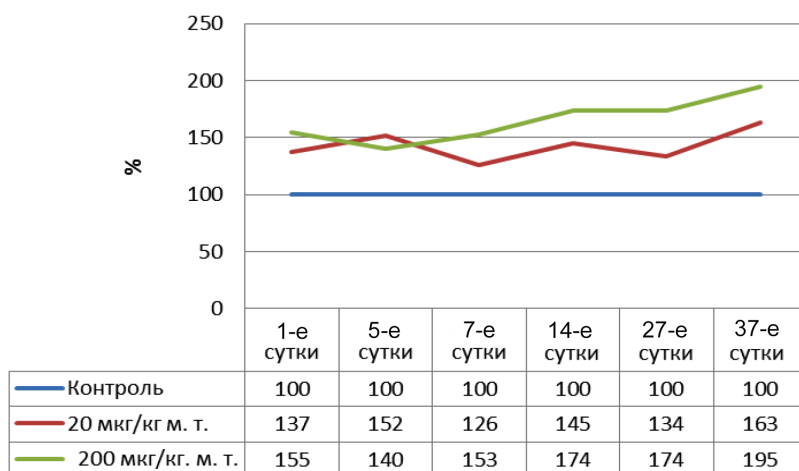
Репродуктивная функция самок F₂ и характеристика потомства F₃, M ± m

Показатель			Группа		
			I – контроль (n = 4)	II – 20 мкг Ge/кг м. т. (n = 5)	III – 200 мкг Ge/кг м. т. (n = 6)
Масса тела самок, г			190,0 ± 14,72	225,0 ± 3,87	222,5 ± 7,5
% от контроля			100,0	118,4	117,1
Фертильность, %			75	80	83
Продолжительность беременности, сут.			22,5 ± 0,29	23,6 ± 0,25*	23,3 ± 0,21*
% от контроля			100	104,9	103,6
Количество крысят на самку			9,0 ± 0,41	10,2 ± 0,66	12,2 ± 0,91*
% от контроля			100	113,3	135,6
Родилось на самку	самцов	гол.	4,7 ± 0,67	5,0 ± 0,00	5,7 ± 0,42
		%	54,0	52,1	48,3
	% от контроля		100	106,4	121,3
	самок	гол.	4,0 ± 0,58	4,6 ± 0,93	6,2 ± 0,87
		%	46,0	47,9	51,7
	% от контроля		100,0	115,0	155,0
Средняя масса помета при рождении, г			48,7	66,7	75,7
% от контроля			100,0	137,0	155,4
Средняя масса крысят, г			5,7 ± 0,06	6,8 ± 0,08**	6,0 ± 0,10*
% от контроля			100,0	119,3	105,3
Краниокаудальный размер, см			3,6 ± 0,02	4,3 ± 0,03**	4,0 ± 0,04**
% от контроля			100,0	119,4	111,1

Пр и м е ч а н и е: *p < 0,05; **p < 0,001 по сравнению с контролем.

Средняя масса помета у животных, которым выпаивали 20 мкг Ge/кг м. т. HGeЦ на 5-е сутки составляла 95,2 г, это выше контроля на 52,0 % (контроль – 62,8 г). На 7-е сутки – разница от контроля уменьшилась на 25,0 % и составила у животных контрольной группы 93,8 г, опытной – 117,9 г. В этот период отмечали самый низкий прирост массы тела крысят этой группы. На 14-е сутки разница от контроля увеличилась и составила 45,0 %. Характерно, что на 27-е сутки снова произошло уменьшение разницы средней массы помета (от контроля) с последующим резким увеличением ее на 37-е сутки (см. рисунок).

У животных 3-й группы, которым выпаивали высокую концентрацию препарата – 200 мкг Ge/кг м. т., средняя масса помета на протяжении всего лактационного периода превышала показатели животных контрольной группы. На 5-е сутки средняя масса помета была выше на 40,0 %, на 7-е сутки – на 53,0, на 14-е и 27-е сутки – на 74,0 %. На 37-е сутки, при отлучке, средняя масса помета превышала показатели животных контрольной группы почти



Динамика массы помета поколения F_3 , %

в 2,0 раза – на 94,8 %. Характерно, что сохранность крысят в опытной и контрольной группах не изменялась и составила 100 %.

Одним из важных факторов роста и развития потомства является молочность крысы-матери, которая обеспечивает развивающийся приплод полноценным питанием: усиливает рост на ранних стадиях и продлевает стабильные приросты.

Сравнительное изучение уровня молочности при действии низкой и высокой доз HGeЦ показало, что ее средний показатель был выше в группе крыс, которым выпаивали 200 мкг Ge/кг м. т. и составляла 932 г, что на 99,2 % выше, чем в контрольной группе животных (468 г). При выпаивании 20 мкг Ge/кг м. т. этот показатель был несколько ниже и составлял 774 г, что на 17,0 % ниже, чем в 3-й группе, но на 65,0 % выше, чем у животных контрольной группы.

Полученные результаты исследований репродуктивной функции самок крыс F_2 и постнатального развития их потомства F_3 указывают на выраженное стимулирующее действие применяемых с водой разных доз HGeЦ на физиологические процессы в организме.

Выводы

При выпаивании с водой высоких и низких концентраций HGeЦ в течение полового и физиологического созревания крыс F_2 , установлено:

- 1) повышение фертильности самок и статистически достоверное увеличение продолжительности беременности у животных опытных групп;
- 2) рост многоплодия самок, который зависит от дозы HGeЦ: у животных, к которым применяли низкие его концентрации, количество крысят на самку увеличилось на 13,3 %, а у тех, к которым применяли высокие концентрации, – на 35,6 %;

3) средняя масса крысят при рождении и их краниокаудальные размеры увеличиваются при применении как высокой, так и низкой концентрации HGeЦ;

4) стимулирующее влияние HGeЦ на плодовитость и молочность самок крыс увеличивает среднюю массу помета крыс на протяжении всего лактационного периода и не снижает сохранность крысят.

Литература

1. Влізло, В. В. Нанобіотехнології. Сучасність та перспективи розвитку / Р. Я. Іскра, Р. С. Федорук // Біологія тварин. – 2015. – Т. 17, № 4. – С. 18–29.
2. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів : довідник / за ред. І. Я. Кочумбас. – Л. : Тріада плюс, 2006. – 360 с.
3. Долайчук, О. П. Фізіологічний вплив наноцитрату германію за умов його впоювання лактуючим самкам щурів та їх приплоду / Р. С. Федорук, В. Г. Каплуненко // Фізіолог. журн. – 2014. – Т. 60. № 3. – С. 222.
4. Стадник, А. М. Біологічна роль германію в організмі тварин та людини / А. М. Стадник, Г. О. Биць, О. А. Стадник // Наук. вісн. Львівської нац. акад. вет. медицини ім. С. З. Гжицького. – Львів, 2006. – Т. 8, № 2, ч. 1. – С. 185–174.
5. Тесарівська, У. І. Репродуктивна функція самок щурів F₁ і постнатальний розвиток щурят F₂ за дії різних доз наногерманію цитрату / Р. С. Федорук, М. І. Шумська // Наук. вісн. Львівського нац. ун-ту вет. медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. – Львів, 2016. – С. 124–130.

Поступила 06.07.2017 г.

СОДЕРЖАНИЕ

Ломако Ю. В., Якубовский М. В., Красочко И. А., Борисовец Д. С., Насонов И. В., Лысенко А. П., Щемелева Н. Ю., Кучинский М. П., Черник М. И., Каменская Т. Н., Кузьминский И. И., Костюк Н. И., Ларькова А. Е. Наука ветеринарной медицины Беларуси: ретроспективный анализ достижений и перспективы развития	3

Р а з д е л 1

ЭПИЗООТИЧЕСКИЙ ПРОЦЕСС ПРИ ИНФЕКЦИОННЫХ И ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЯХ ЖИВОТНЫХ

Субботин А. М., Максимович В. В. Современные проблемы инфекционной патологии животных в Республике Беларусь.....	21
Горovenko М. В., Медведская Т. В. Гельминтофауна желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота северной зоны Республики Беларусь	33
Никоненко Т. Б. Вирусно-гельминтозные ассоциации при гастроэнтеритах у собак	37
Химич М. С., Пивень О. Т. Гельминтозы как одна из ведущих причин снижения качества баранины в Одесской области.....	40
Василькова В. П. Оценка применения телятам, инвазированным паразитами желудочно-кишечного тракта, иммуностимуляторов на основе бактериальных липополисахаридов	44

Р а з д е л 2

ЗООНОЗЫ И ОСОБО ОПАСНЫЕ БОЛЕЗНИ

Лозовой Д. А. Комплекс совместных мер государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром и его реализация в 2016 году	49
Якубовский М. В., Мясцова Т. Я., Борищук А. П., Козлова Н. Л. Дирофиляриоз домашних животных в Беларуси.....	55
Букалова Н. В., Богатко Н. М., Артеменко Л. П., Гончаренко В. П., Прилипко Т. Н. Влияние эхинококковой инвазии на безопасность и качество мясного сырья	59
Ривак Г. П. Микроскопическая идентификация компонентов животного происхождения в кормах как метод профилактики губчатобразной энцефалопатии	64
Соловьёва Л. М. Клиническая картина демодекоза собак	69
Артеменко Л. П., Букалова Н. В., Гончаренко В. П., Небешук О. Д. Биолого-эпизоотологическая характеристика «украинских штаммов» <i>Echinococcus granulosus</i>	72
Горчаков В. В., Гладкова Н. А., Захарова О. И., Торопова Н. Н. Профилактика фасциолёза: растительный моллюскоцид на основе бадана толстолистного	77

Раздел 3

ПРОБЛЕМЫ РАЗРАБОТКИ СОВРЕМЕННЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Зеленевский Н. В., Щипакин М. В., Зеленевский К. Н., Прусаков А. В., Вирунен С. В. Метод билатеральной рентгенографической визуализации сосудистого русла объемных органов позвоночных животных	82
Верещак Н. А., Порываева А. П., Красноперов А. С., Опарина О. Ю. Прогностическое значение оценки структурного состава клеточного звена иммунитета у телят в постнатальном периоде	85
Лысенко А. П., Власенко В. В., Красникова Е. Л., Ван Хунлян. Исследование эффективности термического обеззараживания молока коров, реагировавших на туберкулин, с использованием методов обнаружения CWD форм микобактерий туберкулеза	90
Черник М. И., Тяпша Ю. И., Дубаневич О. В., Гуринович О. Л. Молекулярно-генетическая детекция генома <i>Ascosphaera apis</i> – возбудителя аскосфероза пчел	95
Сбойчаков В. Б., Михеев В. Е., Борисенко С. В., Сокурова А. М. Физиологические особенности птиц как доноров биологического сырья для производства диагностических препаратов.....	101
Кудрявченко А. П., Кацимон В. В. Разработка и апробация ПЦР тест-системы для детекции <i>Toxoplasma gondii</i>	106
Касянчук В. В., Бергилевич А. Н., Дерябин О. Н., Кустуров В. Б., Ефимова О. Н. Разработка тест-системы, основанной на ПЦР для идентификации шигатоксинпродуцирующих <i>E. coli</i> (STEC)	110
Анисина О. В. Метод точечного анализа для выявления антигена вируса бешенства	115
Красочко П. А., Жаворонок С. В., Красочко П. П., Борисовец Д. С., Прокопенкова Т. М. Разработка тест-системы для выявления Ig-антител к вирусу гепатита Е у свиней методом иммуноферментного анализа	118
Соболев И. А., Шестопалов А. М. Тест-система для быстрой индивидуальной диагностики вирусных инфекций методом иммунохроматографии	122

Раздел 4

АССОЦИАТИВНЫЕ БОЛЕЗНИ ИНФЕКЦИОННОЙ, ПАЗАРИТАРНОЙ И НЕЗАРАЗНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Прудников В. С., Лазовская Н. О., Прудников А. В. Основные причины и патоморфология ассоциированного течения инфекционных болезней у цыплят-бройлеров	128
Щемелева Н. Ю. Новый комплексный препарат для лечения ассоциативных инвазий телят	131
Черник М. И., Рахматуллин Д. К. Аэрозольный способ борьбы с варроатозом пчел.....	136

Раздел 5

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РАЗРАБОТКИ И ПРОИЗВОДСТВА ПРОТИВОБАКТЕРИАЛЬНЫХ, ПРОТИВОВИРУСНЫХ И ДРУГИХ БИОПРЕПАРАТОВ

Ковалев Н. А., Бучукури Д. В., Усень М. М., Красочко П. А. Поливалентные вакцины против вирусных заболеваний плотоядных животных, разработанные в Беларуси.....	142
Гирш Т. А., Шубина Е. А., Пухова Н. М. Анализ рисков в производственных процессах изготовления культуральных противовирусных вакцин для животных	146

Албулов А. И., Фролова М. А., Красочко П. П., Красочко И. А., Гринь А. В., Мурадян Ж. Ю. Использование сукцината хитозана в качестве защитной среды при изготовлении сухой инактивированной вакцины против инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.....	151
Пухова Н. М., Самуйленко А. Я. История разработки и совершенствования производства антирабических вакцин из вируса бешенства, штамм «Щелково-51»	154
Богомолова О. А. Оценка эффективности сорбированной инактивированной вакцины против некробактериоза животных.....	158
Новикова О. Н., Ломако Ю. В. Влияние вакцины для профилактики колибактериоза, сальмонеллеза, клебсиеллеза, протеоза сельскохозяйственных животных на показатели фагоцитарной активности гранулоцитов крови телят.....	161
Заерко В. И., Абакин С. С., Потапович М. И., Прокулевич В. А. Изучение антигенной активности вакцины против лептоспироза животных инактивированной лиофилизированной «Лептогард» с использованием в качестве иммуностимулятора препарата «Биферон-Б» производства ООО «НПЦ Пробиотех» (Республика Беларусь)	165
Якубовский М. В. Ретроспективный анализ и перспективы создания вакцин для профилактики паразитарных болезней животных	170
Кукленкова И. В., Гусев А. А., Голдабин В. Н., Фролов А. В., Беляков С. В. Влияние праймирования цыплят на формирование иммунитета при последующей их иммунизации с использованием живых вакцин против ньюкаслской болезни.....	173
Насонов И. В., Кныш Н. В., Костюк Н. И., Гуринович О. Л., Волчек Л. Т. Сравнительная оценка иммуногенности вакцин для профилактики инфекционного бронхита кур, ньюкаслской болезни птиц и инфекционной бурсальной болезни птиц.....	177
Радюш И. С., Насонов И. В. Профилактическая эффективность инактивированной вакцины против реовирусной инфекции птиц из штамма «КМИЭВ-V118».....	180
Люлькова Л. С., Самуйленко А. Я. Получение иммунной хламидийной сыворотки.....	184
Красочко П. А., Костюк Н. И., Красочко И. А., Антонова З. А., Борисовец Д. С., Стрельчenea И. И. Определение содержания белков, макро- и микроэлементов в ростовых питательных средах	188
Красочко П. А., Борисовец Д. С., Зуйкевич Т. А., Прокопенкова Т. М., Кашпар Л. Н. Изучение влияния микроносителей на основе модифицированных полисахаридов на перевиваемые культуры клеток животных	193
Костюк Н. И., Стрельчenea И. И., Кныш Н. В., Бурко А. Н., Ткалич Е. С. Восстановление клеток перевиваемой линии 3 КГ после криоконсервации	197
Костюк Н. И., Стрельчenea И. И., Кныш Н. В., Великий С. В., Шпилевский Д. О. Применение перевиваемой культуры клеток ВНК-21 для сравнительного анализа рост-стимулирующей активности сывороток крови.....	201
Бойко С. С., Яценко Е. С. Влияние ультразвука на <i>Bacillus subtilis</i> в процессе стационарного культивирования	205
Соловьев Л. Б., Анисимова Л. В., Коротеева Л. А., Павленко И. В., Маркина Н. В. Иммуногенная активность инактивированной вакцины против сальмонеллеза свиней	209
Гринь С. А., Самуйленко А. Я., Мельник Р. Н., Андроник А. Н., Боровой В. Н., Литенкова И. Ю., Матвеева И. Н., Бондарева Н. А., Синковец С. М. Поствакцинальный иммунитет.....	213
Клюкина В. И. Стратегия ДНК-иммунизации против бешенства.....	218

Самуйленко А. Я., Скотникова Т. А., Еремец В. И., Еремец Н. К., Ковальский И. В. Системы менеджмента качества биопредприятий агробиологической промышленности	221
Самуйленко А. Я., Школьников Е. Э., Раевский А. А., Еремец В. И., Сокорев Н. В. Технологические аспекты производства вакцины против стрептококковых заболеваний...	226

Раздел 6

СОЗДАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК, ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ, ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ И ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Моренко Е. А., Коваленко Т. С., Михеев В. Е., Пашенко А. В. Разработка нового биогенного стимулятора для животных как заменителя кормовых антибиотиков и гормонов ...	232
Рывак Р. О., Мерзлов С. В. Изучение токсичности повторной дозы кормовой добавки из пресноводной водоросли <i>Lemna minor</i> , обогащенной йодом	236
Тюрин В. Г., Семенов В. Г., Назаров С. Д. Биологические свойства цеолитов пермаит и пермаик	241
Клестова З. С., Марченко М. И., Воронина А. К., Мирюта А. Ю., Пальчиковская Л. И., Сторожук О. В., Поронник О. А., Парникоза И. Ю., Кунах В. А. Биологические свойства экстрактов растений, произрастающих в разных условиях, включая экстремальные	246
Высоцкий А. Э. Оптимальные условия получения надпропионовой кислоты в системе перекись водорода–пропионовая кислота	251
Пустовит Н. А., Пинчук Н. Г., Кудрявченко А. П. Исследование устойчивости выделенных изолятов кампилобактерий к действию дезинфицирующих средств	255
Азаев Г. Х. Экономическая эффективность применения иммуномодуляторов в птицеводстве	260
Тучковская А. В., Шабловский В. О., Высоцкий А. Э. Токсикологическая оценка и биоцидные свойства средства дезинфицирующего «Валисан»	265
Каменская Т. Н., Лукьянчик С. А., Хендогина О. В. Экстрафитомаст – антисептик на основе лекарственных трав для обработки кожи вымени и сосков	269
Трушкин В. А., Ковалев С. П., Воинова А. А., Никишина И. В., Никитин Г. С. Результаты применения пробиотика «Ветом 1.1» при энтеритах у телят	275
Русаков Р. В. Эффективность биологически активных добавок в отношении репродуктивных функций крупного рогатого скота	278
Порываева А. П., Печура Е. В., Красноперов А. С., Опарина О. Ю. Профилактическая и терапевтическая эффективность препарата микробиологического происхождения при острой респираторной вирусной инфекции крупного рогатого скота	283
Кузьминский И. И., Лиленко А. В., Степанова Е. А. Лечебная и профилактическая эффективность препарата «Белэндомаст» при скрытом эндометрите и мастите коров	288
Вельбивец Н. В., Плахотнюк И. Н., Бабань О. А. Оценка и сравнительная эффективность методов лечения коров, больных послеродовым эндометритом	292
Железко А. Ф. Повышение естественной резистентности организма телят профилактического периода выращивания путем введения в рацион яблочной кислоты	297
Радчиков В. Ф., Шнитко Е. А. Сорбирующая добавка с включением про-, пре- и синбиотиков для молодняка крупного рогатого скота	302
	427

Величко В. А., Авдосьева И. К., Каплуненко В. Г., Регенчук В. В., Басараб О. Б. Гермакап – эффективная кормовая смесь, изготовленная на основе современной нанотехнологии, для птицеводства.....	306
Азаев Г. Х. Сравнительное изучение влияния применения иммуностимуляторов на формирование специфического иммунитета у птиц.....	312
Насонов И. В., Лизун Р. П., Милоста О. В., Волчек Л. Т., Кныш Н. В. Коррекция системных нарушений азотистого обмена при мочекишлом диатезе у птиц инновационным препаратом «Урамин»	316
Кыкиш И. Б., Ковальчук И. И., Романив Л. И. Влияние разных доз микроэлементного препарата на выживаемость медоносных пчел	321
Пащенко А. Г., Ковальчук И. И. Синергическое и антагонистическое действие цитратов кобальта и никеля на содержание микроэлементов в тканях организма пчел.....	324
Кременяк Л. П., Абрамова В. Ф. Влияние биологически активных веществ гибрида красного калифорнийского червя на факторы резистентности организма кроликов.....	329

Раздел 7

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ В СОВРЕМЕННОМ ЖИВОТНОВОДСТВЕ

Исакова М. Н., Ряпосова М. В., Шкуратова И. А. Сравнительный анализ иммуне-матологических показателей крови высокопродуктивных коров при воспалении молочной железы.....	334
Воинова А. А., Ковалев С. П., Никитин Г. С., Трушкин В. А., Никишина И. В. Гепаторенальный синдром у высокопродуктивных коров.....	340
Тюрин В. Г., Семенов В. Г., Никитин Д. А. Реализация биоресурсного потенциала черно-пестрого скота на фоне иммунокоррекции	344
Ковалев С. П., Трушкин В. А., Киселенко П. С., Воинова А. А., Никитин Г. С. Показатели крови телят, рожденных от больных кетозом коров	349
Неминушая Л. А., Провоторова О. В., Красочко П. П., Филимонов Д. Н., Енга-шев С. В. Эффективность комплексного применения синбиотика и ципровентора при лечении желудочно-кишечных и респираторных заболеваний телят	353
Надаринская М. А., Голушко О. Г., Козинец А. И., Гринь М. С. Морфофункциональ-ные свойства крови молодняка крупного рогатого скота при скармливании добавки «Лактумин».....	357
Трокоз В. А., Трокоз А. В. Содержание общего белка и гамма-глобулинов в сыво-ротке крови свиней различных типов нервной системы при скармливании «Йодис-концентрата».....	362
Данчук А. В., Карповский В. И., Трокоз В. О., Постой Р. В., Приступа Т. И. Взаимо-связь и влияние основных характеристик корковых процессов на активность каталазы в эритроцитах свиней	367
Лобан Н. А. Оценка генетической предрасположенности свиней к заболеванию коли-бактериозом.....	372
Лобан Н. А. Профилактика стресса у свиней методами геномной селекции.....	376
Рудь В. О., Тарасенко Л. А. Профилактика стресса у поросят	381
Ананчиков М. А., Новикова О. Н., Белянко Д. Л., Дадашко С. В. Физико-химические показатели мочи свиноматок при инфекциях мочевыводящих путей.....	385

Тюрин В. Г., Семенов В. Г., Иванов Н. Г., Иванова Е. Е. Коррекция неспецифической резистентности и специфического иммуногенеза организма в реализации биопотенциала птицы.....	390
Святковский А. В., Рябцев П. С., Святковский А. А. Продуктивность и неспецифическая резистентность у цыплят-бройлеров при сочетанном применении кормового комплекса «Энерджи» и пробиотика	395
Медведский В. А., Медведева Д. В. Гигиена выращивания индейки для детского питания	397
Будевич А. И., Петрушко Е. В., <u>Петрушко И. С.</u>, Шеметков Д. А., Курак А. С., Заремба Н. Л. Динамика рекомбинантного лактоферрина человека, продуцируемого с молоком коз в различные сезоны года.....	402
Головнева Н. А., Романова Л. В., Андрусевич А. С., Финогенов А. Ю., Мистейко М. М. Антагонистическая активность микробных композиций на основе бактерий родов <i>Bifidobacterium</i> и <i>Lactobacillus</i> , перспективных для использования в составе кормовой добавки для пушных зверей	407
Трефилов Б. Б., Святковский А. В., Святковский А. А. Влияние митофена на клетки тканевой культуры	412
Ключук М. Р., Данчук В. В., Данчук А. В. Содержание оснований Шиффа в эритроцитах крови свиней под влиянием нанопрепарата Zn, Fe, Ge и мицеллярной формы токоферола	414
Тесаривская У. И. Репродуктивная функция самок крыс F ₂ при действии низкой и высокой доз наногермания цитрата.....	419

Научное издание

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВЕТЕРИНАРНОЙ ПАТОЛОГИИ
И БИОТЕХНОЛОГИИ В АГРОПРОМЫШЛЕННОМ КОМПЛЕКСЕ**

**Материалы Международной научно-практической конференции,
посвященной 95-летию РУП «Институт экспериментальной
ветеринарии имени С. Н. Вышелесского»**

Минск, 16–17 ноября 2017 г.

С о с т а в и т е л ь

Ломако Юрий Васильевич

Ответственные редакторы *М. В. Якубовский, А. Е. Ларькова*

Выпускающий редактор *И. А. Лукьянова*

Редактор *Н. Т. Гавриленко*

Художественный редактор *Д. А. Комлев*

Технический редактор *О. А. Толстая*

Компьютерная верстка *Ю. А. Агейчик*

Подписано в печать 04.11.2017. Формат 70×100^{1/16}. Бумага офсетная. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 34,94. Уч.-изд. л. 27,2. Тираж 150 экз. Заказ 214.

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, 220141, г. Минск.