

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

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

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

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

ЗАМ. ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

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

СЕКРЕТАРЬ:

Щемелёва Н.Ю. – кандидат ветеринарных наук

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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

Лысенко А.П. – доктор ветеринарных наук, профессор

Кучинский М.П. – доктор ветеринарных наук, профессор

Ломако Ю.В. – кандидат ветеринарных наук, доцент

Борисовец Д.С. – кандидат ветеринарных наук

НАД НОМЕРОМ РАБОТАЛИ:

Ларькова А. Е.

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

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ

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

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

ВСЕ СТАТЬИ РЕЦЕНЗИРУЮТСЯ

© «Эпизоотология Иммунобиология Фармакология Санитария»

СОДЕРЖАНИЕ	CONTENTS
<u>ЭПИЗООТОЛОГИЯ</u>	<u>EPIZOOTOLOGY</u>
Вербицкая Л.А. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ПАРАЗИТАРНАЯ СИСТЕМА ОВЕЦ В ЮЖНЫХ И ЮГО-ЗАПАДНЫХ РЕГИОНАХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ 3	Verbitskaya L.A. THE STRUCTURAL-FUNCTIONAL PARASITIC SYSTEM OF SHEEP IN THE SOUTHERN AND SOUTH-WESTERN REGIONS OF THE REPUBLIC OF BELARUS
Жерносек И.А., Передера Р.В., Слюсар Г.В. АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА РАЗВИТИЕ АКТИНОМИКОЗА ДЕКОРАТИВНЫХ КРОЛИКОВ, ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА БОЛЕЗНИ 9	Zhernosek I.A., Peredera R.V., Slyusar G.V. ANALYSIS OF THE MAIN FACTORS AFFECTING THE DEVELOPMENT OF LUMPY DECORATIVE RABBITS, TREATMENT AND PREVENTION OF DISEASE
Зайцева В.В. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УГЛЕВОДОВ ТРИХОФИТОНОМ НА СРЕДАХ РАЗНОГО СОСТАВА 16	Zaitseva V.V. ESTIMATION OF EFFICIENCY OF USE OF CARBOHYDRATES TRIHOFITONOM ON MEDIA OF DIFFERENT COMPOSITION
Музыкина Л.Н., Романенко В.Ф. ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ ЭНТЕРОВИРУСОВ СВИНЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ В ХОЗЯЙСТВАХ УКРАИНЫ 24	Muzykina, L.N., Romanenko, V.F. THE STUDY OF THE ANTIGENIC PROPERTIES OF ENTEROVIRUSES OF PIGS SELECTED IN THE FARMS OF UKRAINE
<u>ИММУНОБИОЛОГИЯ</u>	<u>IMMUNOBIOLOGY</u>
Василькова В.П., Якубовский М.В. ВЛИЯНИЕ ПАРАЗИТОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА НА ОРГАНИЗМ ТЕЛЯТ 34	Vasilkova V.P., Jakubowsky M.V. INFLUENCE OF PARASITES OF THE GASTRO-INTESTINAL TRACT ON THE ORGANISM OF CALVES
Пахноцкая О.П., Якубовский М.В. ИММУННЫЙ СТАТУС ТЕЛЯТ ПРИ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ 42	Pahnotskaya O.P., Jakubowski M.V. IMMUNE STATUS OF CALVES AT CRYPTOSPORIDIOSIS
Пахноцкая О.П. ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ИММУНИТЕТА, ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА И ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ТЕЛЯТ ПРИ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ 48	Pahnotskaya O.P. PATHOLOGICAL CHANGES IN THE IMMUNITY ORGANS, GASTROINTESTINAL TRACT AND THYROID CALVES AT CRYPTOSPORIDIOSIS
Мартынова М.А., Бушмакина И.М., Карпович А.И., Красочко П.А., Борисовец Д.С., Шуканова Н.А. ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В ПРИСУТСТВИИ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ 54	Martynova M.A., Bushmakina I.M., Karpovich A.I., Krasochko P.A., Borisovets D.S., Shukanova N.A. PHAGOCYTIC ACTIVITY OF NEUTROPHILS IN THE PRESENCE OF AN IMMUNOSTIMULANT
Усень М.М., Ковалев Н.А., Красочко П.А., Бучукюри Д.В. КОНСТРУИРОВАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО ГЕПАТИТА СОБАК 59	Usenya M.M., Kovalev N.A., Krasochko P.A., Buchukuri D.V. STUDY DESIGN AND EFFICIENCY INACTIVATED VACCINE AGAINST INFECTIOUS HEPATITIS DOG
<u>САНИТАРИЯ</u>	<u>SANITATION</u>
Каменская Т.Н., Лукьянчик С.А., Хендогина О.В., Кривенок Л.Л. АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ И ВЛИЯНИЕ СРЕДСТВА ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО «ПЕРОКСИН-ПЛЮС» НА ПРОДУКТЫ УБОЯ ЖИВОТНЫХ ПРИ ЕГО ПРИМЕНЕНИИ В МАКСИМАЛЬНО ИСПОЛЪЗУЕМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ 66	Kamenskaya T.N., Lukyanchuk S.A., Hendogina O.V., Krivenok L.L. ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND EFFECT OF DISINFECTANTS «PEROKSIN-PLUS» FOR PRODUCTS OF ANIMAL SLAUGHTER IN ITS APPLICATION TO THE MAXIMUM USE CONCENTRATION
Каменская Т.Н., Лукьянчик С.А., Хендогина О.В. КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЯСА БЫЧКОВ, ПОЛУЧАВШИХ СИЛОС С КОНСЕРВАНТОМ-ОБОГАТИТЕЛЕМ НА ОСНОВЕ ТОРФА 72	Kamenskaya T.N., Lukyanchuk S.A., Hendogina O.V. MEAT QUALITY INDICATORS BULLS OBTAINING SILOS WITH PRESERVATIVE-DRESSING BASED ON PEAT

Компьютерная верстка: ЛУКЪЯНОВА И.А.

Подписано в печать 18.03. 2016 г.

Формат 60x84^{1/8} Бумага офсетная. Гарнитура Таймс.

Уч.-изд. л. , усл. печ. л. 8,84 Тираж 100 экз. Заказ №

220003, г. Минск, ул. Брикета, 28, E-mail: bievsm@tut.by; KNIR@tut.by

Республиканское унитарное предприятие «Информационно-вычислительный центр

Министерства финансов Республики Беларусь».

Свидетельства о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий №1/161 от 27.01.2014, №2/41 от 29.01.2014. Ул. Кальварийская, 17, 220004, г. Минск.

Вербицкая Л.А., кандидат ветеринарных наук, доцент

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ПАРАЗИТАРНАЯ СИСТЕМА ОВЕЦ В ЮЖНЫХ И ЮГО-ЗАПАДНЫХ РЕГИОНАХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Резюме

Многие годы в Республике Беларусь хозяйства активно занимались разведением овец. Овцеводство по разнообразию производимой продукции существенно отличается от других отраслей. Однако в последние годы их поголовье в общественном секторе сократилось по ряду причин, в т.ч. из-за высокой предрасположенности и зараженности поголовья животных паразитарными заболеваниями.

Изучение инвазированности овец гельминтами проводили на животных специализированного овцеводческого хозяйства «Дружба» (СПК «Конюхи»), а также в индивидуальных хозяйствах различных агроклиматических зон. В результате наших исследований установлено, что самыми распространенными гельминтами являются кишечные стронгиляты, стронгилоиды, диктиокаулы, фасциолы. Наиболее высокая инвазированность гельминтами установлена в индивидуальных хозяйствах.

Summary

Many years in the Republic of Belarus economy were actively engaged in breeding sheep. Sheep, variety of products is significantly different from other industries. However, in recent years their numbers in the public sector has declined, for a number of reasons, including due to the high susceptibility and infection of livestock by parasitic diseases.

The study helminths infestation of sheep, were carried out on animals of the specialized sheep farms «Druzhba» (SEC «Konuhi»), as well as in individual households southern climatic zones. In our experiments we found that the most common helminths are protostrongilides, strongyloides, dictyocaulus, fasciolosis. The highest invasion by helminths installed in individual households.

Поступила в редакцию 03.12. 2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

Большой резерв в развитии продуктивного животноводства представляет овцеводство, которое по разнообразию производимой продукции существенно отличается от других отраслей. От овец получают шерсть, мясо, молоко, шубно-меховое сырье, каракуль и т.д. [1].

Из всех домашних животных овцы лучше других используют грубые корма. Они обладают ранней хозяйственной зрелостью, позволяющей получать от них полноценную продукцию в короткий период. При этом у молодняка овец до 9-месячного возраста интенсивно растет мышечная ткань при медленном наращивании жировой, поэтому баранина отличается высокой питательностью и диетическими свойствами. В связи с этим она занима-

ет существенную долю в мясном балансе многих народов мира [2].

Многие годы в Республике Беларусь активно разводили овец. По данным различных источников литературы в 1940 г. в БССР было от 2,5 до 4 млн. овец. Но по ряду причин количество поголовья постепенно уменьшилось, особенно после известной аварии на ЧАЭС. Однако в настоящее время агропромышленный комплекс в нашей республике развивается динамично с направлениями внедрения промышленных технологий в животноводстве. Утверждена государственная программа развития овцеводства на ближайшие годы. Получают дальнейшее развитие фермерские и индивидуальные хозяйства, где используются принципиально разные технологии выращивания животных. Вместе с

тем, на эффективность ведения овцеводческой отрасли существенно влияют многочисленные болезни, особенно паразитарные [3, 4]. Это ведет к изменению эпизоотических проблем патологии овец. Выяснение возбудителей гельминтозов животных в современных условиях хозяйствования, распространение болезней и сезонная динамика заболеваемости являются составляющей частью эпизоотического процесса. Его изучение при любой патологии позволяет целенаправленно разрабатывать и проводить мероприятия по профилактике и борьбе с заразными заболеваниями [5].

Изучению паразитофауны овец в различные периоды развития сельского хозяйства на территории Республики Беларусь был посвящен ряд исследований [6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение инвазированности овец гельминтами, а также сезонной и возрастной динамики проводили на животных специализированного овцеводческого хозяйства «Дружба» (СПК «Конюхи»), а так-

же в индивидуальных хозяйствах различных агроклиматических зон в соответствии с почвенно-географическим районированием территории Республики Беларусь.

В хозяйствах овец исследовали по методам Дарлинга, последовательного промывания и Берману-Орлову. Анализировали сведения диагностических лабораторий и вскрытия овец. Определение видов, родов, семейств и подотрядов выявленных гельминтов проводили, руководствуясь данными Ятусевича А.И. с соавт. [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение распространения гельминтозов овец в специализированном хозяйстве «Дружба» Брестской области проводили путем исследования проб фекалий от 1095 взрослых животных, 878 ягнят до 6-месячного возраста, 1082 голов 6–12-месячного возраста. Всего исследовано 3055 проб фекалий.

Результаты этих обследований представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Паразитофауна овец различных возрастных групп в специализированном хозяйстве «Дружба»

Виды (роды, семейства) выявленных паразитов	Возрастные группы овец, % заражения			% заражения по периодам года			
	взрослые овцы	ягнята до 6 месяцев	молодняк 6–12 месяцев	зимний	весенний	летний	осенний
<i>Fasciolahepatica</i>	23,1	0	8,04	7,5	6,54	13,09	17,89
<i>Paramphistomatidaesp.</i>	6,11	0	2,12	1,57	1,57	4,64	4,21
<i>Strongyloidespapillosus</i>	22,37	37,24	36,22	38,42	32,84	23,94	30,39
<i>Strongylatasp.</i> (кишечные)	48,58	40,09	38,72	46,71	40,48	44,92	38,81
<i>Capillariabovis</i>	4,74	4,66	2,31	2,23	5,81	4,36	2,89
<i>Trichocephalusovis</i>	12,69	7,97	11,46	8,68	14,66	11,12	8,81
<i>Muelleriuscapillaris</i>	9,86	5,23	8,68	10,92	12,12	7,18	1,84
<i>Monieziasp.</i>	15,98	0,79	10,99	6,97	7,39	11,83	13,55
<i>Dictyocaulusfilaria</i>	19,26	7,97	17,09	14,86	22,66	18,02	5

Таблица 2 – Инвазированность овец гельминтами в специализированном хозяйстве «Дружба»

Возрастные группы	Обследов. голов	Инвазировано (гол / %)	в т.ч. по периодам года, %			
			зимний	весенний	летний	осенний
взрослые овцы	1095	603/55,06	22,19	25,2	26,75	25,84
ягнята до 6 месяцев	878	456/51,93	28,92	33,02	15,37	22,66
молодняк 6–12 месяцев	1082	528/48,79	24,3	23,93	26,06	25,69

Из данных таблицы 1 видно, что основными возбудителями гельминтозной инвазии у овец в хозяйстве «Дружба» являются стронгилоиды, установленные у всех возрастных групп (22,37–37,24 %). Максимальная инвазированность приходится на осенне-зимний и весенний периоды. В летнее время стронгилоиды установлены у 23,94% овец.

Кишечные стронгиляты регистрировались у 38,72–48,58 % овец. Максимальное инвазирование было в зимний период (46,71%).

Значительное распространение в хозяйстве имеет *Fasciola hepatica* (23,1 %) у взрослых овец. При этом максимальная инвазия была в осенний период (17,89 %), что вполне объяснимо, так как из-за длительного цикла развития копроскопически выявить большинство зараженных животных можно только в ноябре–январе.

Следует отметить, что у овец обследуемого хозяйства были выявлены представители подотряда *Trichocephalata* (трихоцефалы – 7,97–12,69 % и капиллярии – 2,31–4,74 %).

Серьезной проблемой для хозяйства являются диктиокаулы, установленные у 7,97–19,26% овцепоголовья. Из легочных гельминтов встречались также мюллерии (5,23–9,86%), изучению которых, как и предыдущих паразитов, должного внимания не уделяется. Установлено также паразитирование парамфистоматид (2,12–6,11%) и мониезий (0,79–15,98).

Из данных таблицы 2 видно, что из 1095 обследованных взрослых животных инвазировано было 603 головы или 55,06 %, из 878 ягнят до 6 месяцев зараженными были 456 голов (51,93%), из 1082 6–12-ме-

сячных овец больными были 528 животных (48,79%). Это можно объяснить, прежде всего, состоянием уровня ветеринарно-санитарной культуры. Минимальная зараженность у взрослых животных была в зимний период (22,19 %), максимальная – в летний (26,75%). Весной (25,2%) и осенью (25,84 %) особых колебаний замечено не было. У ягнят до 6 месяцев минимальная зараженность была летом (15,37%), максимальная – весной (33,02%). У 6–12-месячных животных пик инвазии был в летний период (26,06%), слабее инвазированность отмечалась зимой – 24,3%. При анализе экстенсивности инвазии в сезонном аспекте по возрастным группам видно, что наиболее инвазированы были ягнята до 6 месяцев в весенний (33,02 %) и зимний (28,92 %) период.

Изучение распространения гельминтозов овец в частном секторе западного региона проводили путем исследования проб фекалий от 442 взрослых животных, 258 ягнят до 6-месячного возраста, 360 головах 6–12-месячного возраста (западные районы Гродненской области). Результаты этих исследований представлены в таблицах 3 и 4.

Данные таблицы 3 показывают, что основными возбудителями гельминтозной инвазии являются стронгилоиды – 15,83 % у взрослых овец, 20,54 % – у 6-месячных ягнят, 22,22 % – у молодняка 6–12-месячного возраста; кишечные стронгиляты – 25,33% у взрослых овец, 25,58 % – у 6-месячных ягнят, 26,38 % – в группе 6–12-месячных; капиллярии у взрослых животных – 0,452 %, у молодняка 6-месячного – 6,2 %, 6–12 мес. – 0,27%; трихоцефалы были зарегистрированы в пределах

1,35% (взрослые животные) и 2,77 % (молодняк 6–12 мес.); мониезии – 6,78 % у взрослых животных и 0,77% у молодняка до 6-мес.; диктиокаулы – 13,34 % у взрослых овец и 3,48 % – у ягнят до 6 месяцев;

фасциолы зарегистрированы только у взрослых – 11,53% и у 6–12 мес. – 8,8%; парамфистомататы – взрослые овцы – 1,8% и 6–12 мес. – 2,2%. Дикроцелии были выявлены у 2,26 % взрослых овец.

Таблица 3 – Паразитофауна овец различных возрастных групп

Виды (роды, семейства) выявленных паразитов	Возрастные группы овец, % заражения			% заражения по периодам года			
	взрослые овцы	ягнята до 6 мес.	молодняк 6–12 мес.	зимний	весенний	летний	осенний
<i>Fasciolahepatica</i>	11,53	0	8,8	9,01	2,81	8,58	11,46
<i>Paramphistomatidaesp.</i>	1,80	0	2,2	3,13	0	0,37	2,76
<i>Dicrocoeliumlanceatum</i>	2,26	0	0	2,35	0,35	0,37	0,79
<i>Strongyloidespapillosus</i>	15,83	20,54	22,22	23,13	17,95	12,68	23,32
<i>Strongylatasp.</i> (кишечные)	25,33	25,58	26,38	30,19	27,81	19,02	26,08
<i>Capillariabovis</i>	0,45	6,20	0,27	2,74	0,35	2,61	1,18
<i>Trichocephalusovis</i>	1,35	1,16	2,77	2,35	1,4	0,74	2,76
<i>Monieziasp.</i>	6,78	0,77	3,61	6,66	3,16	3,35	3,95
<i>Dictyocaulusfilaria</i>	13,34	3,48	7,7	7,45	5,63	11,94	11,46

Таблица 4 – Инвазированность овец гельминтами

Возрастные группы	Обследо- вано голов	Инвазирова- но	в т.ч. по периодам года, %			
		(гол/%)	зимний	весенний	летний	осенний
взрослые овцы	442	177/40,04	11,99	9,95	8,37	9,72
ягнята до 6 мес.	258	110/42,63	8,91	8,13	15,11	10,46
молодняк 6–12 месяцев	360	147/40,83	10,83	11,66	9,16	9,16

Анализируя сезонность заболевания, делаем вывод, что фасциолез регистрируется чаще в осенний период (11,46%) и меньше всего весной (2,81%). Максимум парамфистоматат – зимой (3,13 %), а весной они вообще не были выявлены. Содержание стронгилоидов увеличивается осенью (23,32%) и уменьшается летом (12,68%). Интенсивность кишечных стронгилат высокая круглогодично: 30,19 % (зима) – 19,02% (лето). Максимальное количество капиллярий (2,74%), дикроцелий (2,35%), мониезий (6,66%) приходится на зиму, трихоцефал (2,76%) – на осень, диктиокаул (11,94%) – на летний период, минимальное у капиллярий (0,35 %), мо-

ниезий (3,16 %), диктиокаул (5,63 %), дикроцелий (0,35 %) – на весенний, а у трихоцефал (0,74 %) – на летний периоды. Из данных таблицы 4 видно, что из 442 обследованных взрослых животных инвазировано 177 голов или 40,04 %, у 258 ягнят до 6 месяцев зараженными были 110 голов (42,63 %), из 360 6–12-месячных овец – 147 животных (40,83%). Минимальная зараженность у взрослых в летний период (8,37%), максимальная в зимний – 11,99%. У ягнят до 6 месяцев минимальная зараженность была весной – 8,13%, максимальная летом – 15,11%. У 6–12-месячных животных самая высокая инвазированность весной – 11,66%, слабее всего жи-

вотные заражены в летне-осенний период – 9,16 %. При анализе экстенсивности инвазии в сезонном аспекте по возрастным группам видно, что наиболее инвазированы были ягнята до 6 месяцев в летний период (15,11%).

Изучение распространения гельминтозов овец в частном секторе южной при-

родно-климатической зоны выполнено путем исследования проб фекалий от 514 взрослых животных, 280 ягнят до 6-месячного возраста, 473 голов 6–12-месячного возраста (южные районы Брестской области). Результаты этих обследований представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5 – Паразитофауна овец различных возрастных групп в индивидуальных хозяйствах

Виды (роды, семейства) выявленных паразитов	Возрастные группы овец, % заражения			% заражения по периодам года			
	взрослые овцы	ягнята до 6 мес.	молодняк 6–12 мес.	зимний	весенний	летний	осенний
<i>Fasciolahepatica</i>	19,45	0	15,22	14,09	7,12	12,34	21,35
<i>Paramphistomatidaesp.</i>	4,86	0	4,43	3,60	1,78	4,43	4,85
<i>Strongyloidespapillosus</i>	12,25	22,85	12,89	23,93	11,86	11,39	12,62
<i>Strongylatasp.</i> (кишечные)	29,37	33,92	23,46	31,47	26,40	27,53	27,50
<i>Capillariabovis</i>	0	5,71	0,63	2,95	1,18	0,31	1,61
<i>Trichocephalusovis</i>	6,61	0	4,43	3,27	1,78	3,16	9,38
<i>Monieziaasp.</i>	6,61	0	3,38	3,60	3,26	2,21	6,79
<i>Dictyocaulusfilaria</i>	19,26	4,28	7,82	13,77	5,63	12,97	14,88

Таблица 6 – Инвазированность овец в индивидуальных хозяйствах

Возрастные группы	Обследовано голов	Инвазировано (гол /%)	в т.ч. по периодам года, %			
			зимний	весенний	летний	осенний
взрослые овцы	514	212/41,24	10,31	8,17	10,89	11,86
ягнята до 6 месяцев	280	138/49,28	12,85	13,92	10,71	11,78
молодняк 6–12 месяцев	473	164/34,67	8,45	6,97	7,39	11,83

Анализируя данные таблицы 5, видим, что основными возбудителями гельминтозной инвазии являются стронгилоиды: 12,25 % – у взрослых овец, 22,85% – у 6-месячных ягнят, 12,89 % – у молодняка 6–12-месячного возраста; кишечные стронгиляты – 29,37 % у взрослых овец, 33,92 % – у 6-месячных ягнят, 23,46 % – в группе 6–12-месячных; капиллярий нет у взрослых животных, а у молодняка их со-

держание колеблется в пределах 5,71 % (ягнята до 6-месяцев) – 0,63% (6–12 месяцев); трихоцефалы, мониезии, фасциолы, парамфистомататы отсутствовали в группе ягнят до 6-месячного возраста, в остальных возрастных группах эти гельминты были зарегистрированы с колебаниями: фасциолы – 19,45–15,22 %; мониезии – 6,61 % – у взрослых животных, 3,38 % – у молодняка 6–12-месяцев; парамфистомата-

ты – 4,86–4,43 %; трихоцефалы 6,61–4,43 %; диктиокаулы – 19,26 % у взрослых овец, 4,28 % – у ягнят до 6 месяцев, 7,82 % – у молодняка 6–12 месяцев.

Анализируя сезонность заболевания, делаем вывод, что фасциолез регистрируется чаще всего в осенний период (21,35%) и меньше всего весной (7,12 %). Максимум парамфистоматат – осенью (4,85 %), минимум – весной (1,78 %). Содержание стронгилоидов увеличивается зимой (23,93 %) и уменьшается летом (11,39 %). Показатель интенсивности содержания кишечных стронгилит высокий во все сезоны года, процент колеблется в пределах 31,47 % (зима) – 26,4 % (весна). Максимальное количество капиллярий (2,95 %) приходится на зиму, трихоцефал (9,38 %), мониезий (6,79 %), диктиокаул (14,88 %) – на осенний период, а минимальное – у капиллярий (0,31 %), мониезий (2,21 %) – на летний, а у трихоцефал (1,78 %), диктиокаул (5,63 %) – на весенний периоды.

Из данных таблицы 6 видно, что из 514 обследованных взрослых животных инвазировано 212 голов или 41,24 %, у 280 ягнят до 6 месяцев зараженными были 138 голов (49,28%), из 473 6–12-месячных овец больными оказались 164 животных

(34,67%). Минимальная зараженность у взрослых установлена в весенний период (8,17%), максимальная – в осенний 11,86%. У ягнят до 6 месяцев минимальная зараженность отмечена летом (10,71 %), максимальная – весной (13,92%). У 6–12-месячных животных увеличение инвазии было в осенний период (11,83 %), слабее всего инвазированность проявлялась весной – 6,97 %. При анализе экстенсивности инвазии в сезонном аспекте по возрастным группам видно, что наиболее инвазированы были ягнята до 6-месяцев в весенний (13,92 %) и зимний (12,85 %) период.

ВЫВОДЫ

В овцеводческих хозяйствах южной и юго-западной зоны Республики Беларусь различных категорий, самыми распространенными гельминтами являются кишечные стронгиляты (ЭИ – 36,19 %), стронгилоиды (ЭИ – 21,15 %), диктиокаулы (ЭИ – 16,99 %), фасциолы (ЭИ – 12,24 %). Наиболее высокая инвазированность гельминтами установлена в индивидуальных хозяйствах – 27,24 %, в специализированном сельскохозяйственном предприятии «Дружба» инвазировано 13,9 % животных (таблица 1, 2).

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Ветеринарная энциклопедия: в 2 т. / С. С. Абрамов [и др.]; ред. А. И. Ятусевич [и др.]. – Минск : Беларуская Энцыклапедыя імя Петруся Броўкі, 2013. – Т. 2.
- 2 Руководство по ветеринарной паразитологии / А. И. Ятусевич [и др.]; ред.: В. Ф. Галат, А. И. Ятусевич; Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины. – Минск : ИВЦ Минфина, 2015. – 494 с. – Библиогр.: С. 485–486.
- 3 Справочник врача ветеринарной медицины / С. С. Абрамов [и др.]; ред. А. И. Ятусевич. – Минск : Техноперспектива, 2007. – 971 с.
- 4 Якубовский, М. В. Диагностика, терапия и профилактика паразитарных болезней животных: монография / М. В. Якубовский, Н. Ф. Карасев. – Минск: Хата, 2001. – 384 с. – Библиогр.: С. 367–369.
- 5 Ятусевич, А. И. Ветеринарная и медицинская паразитология: энциклопедический справочник / А. И. Ятусевич, И. В. Рачковская, В. М. Каплич; ред. А. И. Ятусевич. – Москва: Медицинская литература, 2001. – 320 с.
- 6 Ятусевич, А.И. Паразитология и инвазионные болезни животных: учебник для студентов по специальности «Ветеринарная медицина» учреждений, обеспечивающих получение высшего образования / А.И. Ятусевич [и др.] – Минск: ИВЦ Минфина, 2007. – 580 с.

УДК 619 : 616.992.28

Жерносек И.А., старший преподаватель
Передера Р.В., кандидат ветеринарных наук, доцент
Слюсар Г.В., преподаватель

УО «Полтавская государственная аграрная академия», г. Полтава

АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА РАЗВИТИЕ АКТИНОМИКОЗА ДЕКОРАТИВНЫХ КРОЛИКОВ, ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА БОЛЕЗНИ

Резюме

В статье изложены факторы, влияющие на развитие эпизоотологического процесса при актиномикозе декоративных кроликов, предложены пути профилактики и лечения данного заболевания. Так как все заболевшие кролики были длинношерстными особями, к ведущему предрасполагающему фактору мы отнесли принадлежность кроликов к определенной породе. Еще одним фактором возникновения актиномикоза у декоративных кроликов является кормление животных некачественными грубыми кормами. Исследованиями установлено, что у декоративных кроликов наиболее распространенная челюстно-лицевая форма актиномикоза, как результат проникновения возбудителя в подкожную клетчатку из ротовой полости или глотки. Лечение актиномикоза у декоративных кроликов проводили с учетом локализации патологического процесса. Во всех случаях были применены хирургические методы. Лечение было эффективным лишь в случаях, ограниченных актиномиком, и их локализации в подкожной клетчатке. Для санации очага от возбудителя применяли декаметоксин, который показан при гнойных и грибковых поражениях кожи (абсцессах, гнойных ранах, кандидозах). Для лечения многоканальных фистульных, сложных актиномиком использовали 1% йодопионовую мазь.

Summary

The article describes the factors that influence the development of the epidemiological process of decorative rabbits, the ways of prevention and treatment of this disease. Since all diseased rabbits were long-haired individuals, leading to the predisposing factors, we carried rabbits belonging to a particular breed. One of the dominant factors of actinomycosis in decorative rabbits is feeding the animals of poor quality roughage. Research has shown that the most common actinomycosis form in decorative rabbits is maxillofacial, as a result of the penetration of the pathogen into the subcutaneous tissue of the oral cavity or pharynx. Actinomycosis treatment of ornamental rabbits was carried out taking into account the localization of the pathological process. Surgical methods were used in all cases. In identifying small, limited aktinomikom, non-bone of the lower jaw, performed their complete extirpation. The treatment was effective only in limited cases aktinomikom and their localization in the subcutaneous tissue. To focus on the rehabilitation of the pathogen was used Decamethoxin, which is shown in purulent and fungal skin lesions (abscesses, septic wounds, candidiasis). For the treatment of multi-fistula, complex aktinomikom used yodopironovuyu 1% ointment.

Поступила в редакцию 09.03.2016 г.

ВВЕДЕНИЕ

Актиномикоз (*Actinomycosis*) (от греч. *Aktis* – луч и *mykes* – гриб) – хроническое инфекционное заболевание животных и человека, вызываемое лучистыми грибами семейства *Actinomycetaceae*, которое характеризуется образованием гранулематозных очагов в различных органах и тканях. При этом воспалительный процесс сопровождается образованием инфильтратов, гнойных очагов, содержащих

зерна или нити актиномицетов, свищей, которые раскрываются наружу или внутрь организма, разрастанием соединительной ткани вокруг ограниченных очагов нагноения в различных органах и тканях.

Возбудитель актиномикоза очень лабильный: различные формы могут с легкостью переходить из сапрофитных в патогенные при попадании в организм и наличии соответствующих условий. Лучистые грибы, как сапрофиты, заселяют почву,

воздух, воду, различные органические субстраты. Их выделяют из молока, сыров, овощей, фруктов, живых и мертвых растений [1, 2].

Актиномикозом болеет как человек, так и животные; заболевание проявляется в различных клинических формах. Считается, что патогенными для человека и животных являются только анаэробные виды актиномицетов – *A. israelii* (для человека) и *A. bovis* (для животных). Однако некоторые исследователи считают возбудителями и аэробные виды [3].

Из продуктивных животных актиномикозом чаще болеет крупный рогатый скот, но могут болеть и другие животные [4]. В последнее время участились случаи заболевания у кроликов декоративных пород, что безусловно связано с их условиями содержания, кормления, погрешностями разведения. Именно поэтому актиномикоз декоративных кроликов является на сегодняшний день актуальной проблемой, которая приносит социальный дискомфорт хозяевам домашних любимцев и требует глубокого изучения с последующим решением.

Цель работы – выделить предрасполагающие факторы, способствующие развитию актиномикоза у кроликов; провести эффективное лечение, разработать мероприятия по профилактике данного заболевания у декоративных кроликов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинико-экспериментальные исследования проводили в 2014–2015 годах на базе учебной клиники кафедры хирургии и акушерства, а также учебной лаборатории кафедры патологической анатомии и инфекционной патологии Полтавской государственной аграрной академии. Исследования проводились на кроликах декоративных пород, больных актиномикозом (n=20). Диагностику осуществляли комплексно. Особое внимание уделяли изучению эпизоотологических особенностей и клинических признаков болезни. Клинические исследования выполнялись обще-

принятыми методами, включая подробный анамнез условий содержания и кормления животных.

Также от больных животных отбирали содержимое актиномиком, которое исследовали бактериологическими и микологическими методами. Содержимое гнойных очагов готовили следующим образом: материал смешивали с физраствором (1:1) и центрифугировали при 1500–2000 об/мин в течение 15–20 мин. Осадок отмывали физиологическим раствором, переносили его на предметное стекло в каплю смеси глицерина с этиловым спиртом в равных объемах или в физиологический раствор и исследовали при малом (x300) и большом увеличении (x1500).

Подготовленный материал высевали на МПА, посевы выдерживали в термостате при температуре 26°C в течение 24 часов. Для изучения морфологии микроорганизмов готовили мазки из выделенных культур и красили их спиртово-водным раствором метиленового синего.

Кусочки пораженных тканей исследовали микологически: проводили посевы на агар Чапека и инкубировали при температуре 26°C в течение 15 дней.

На основании проведенных исследований разрабатывали комплекс мер по ликвидации и профилактике болезни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Согласно результатам исследований у декоративных кроликов наиболее распространенной оказалась челюстно-лицевая форма актиномикоза, что является результатом проникновения возбудителя в подкожную клетчатку из ротовой полости или глотки. Из двадцати случаев обращения в клинику ветеринарной медицины у 85 % (17 животных) актиномикозный процесс локализовался в нижнечелюстном пространстве, у 15 % (трех животных) – с поражением нижней челюсти. Необходимо отметить, что все 20 больных животных являлись длинношерстными особями ангорской породы или помесными. Согласно результатам анамнеза все кролики содер-

жались в квартирах в клетках. Кормление осуществлялось специализированными зерносмесями и сеном. Сено покупали на рынках или зоомагазинах.

Клиническое проявление актиномикоза у кроликов прежде всего зависело от места локализации процесса и устойчивости организма животного.

У всех животных регистрировали медленное образование плотной опухоли – актиномикомы. Преимущественно патологический процесс локализовался в подкожной клетчатке в области нижней, реже верхней челюсти; иногда в патологический

процесс вовлекалась и костная ткань (рисунок 1).

Из данных анамнеза было установлено, что первыми признаками болезни было снижение аппетита, беспокойство животного; иногда – зуд, умеренная болезненность пораженного участка при пальпации, наличие плотных образований, которые со временем увеличивались.

У отдельных животных центр опухоли размягчался, затем она вскрывалась и образовывались свищи, из которых выделялся сметанообразный желтоватый гной (рисунок 2).



Рисунок 1 – Актиномикомы сросшаяся с костью нижней челюсти кролика



Рисунок 2 – Актиномикозный очаг со свищем в области нижней челюсти

На среде Чапека регистрировали рост небольших круглых колоний *Act. bovis* белого или синего цвета, пушистых, которые с трудом снимались с поверхности. Микроскопически возбудитель имел развитый

мицелий без перегородок, от нитей вверх отходили конидиеносцы, на дистальном конце которых находились конидии овальной формы серого цвета (рисунок 3, 4).

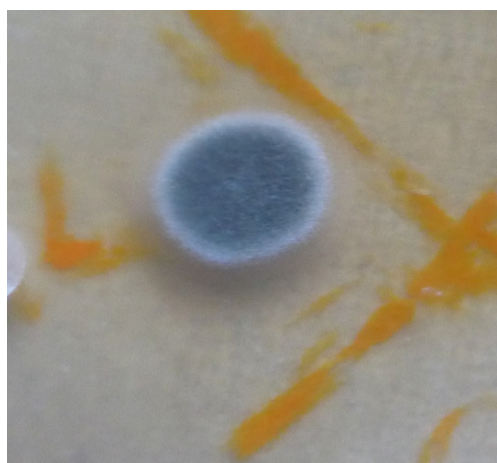
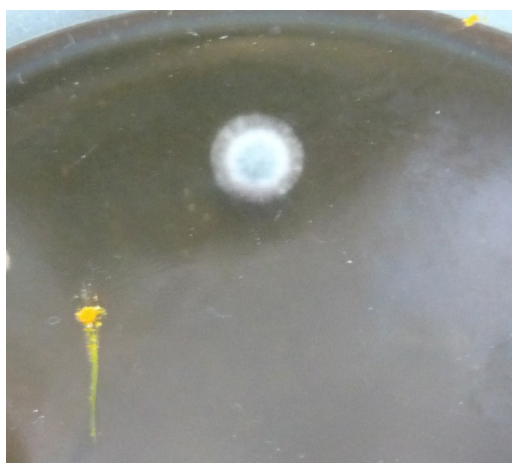


Рисунок 3, 4 – Колонии *Act. bovis* на поверхности агара Чапека

При микроскопическом и микологическом исследовании содержимого очагов поражения актиномицеты выявляли не всегда. Спустя 1–2 месяца после хирургической обработки, в запущенных случаях, при актиномикозе кости микроскопическими исследованиями гнойных масс друз актиномицетов не выявляли, а рост грибов на средах был скудным или вовсе отсутствовал.

Наружные отверстия фистульных ходов периодически заживали с образованием рубца или фунгозной язвы.



Лечение актиномикоза у декоративных кроликов проводили с учетом локализации патологического процесса. Во всех случаях были применены хирургические методы.

При выявлении небольших ограниченных актиномиком, не связанных с костью нижней челюсти, проводили их полную экстирпацию. Гранулёмы большого размера с множественными полостями, ограниченными между собой соедини-

У двух животных актиномикомы, появившиеся в области глотки и гортани, разрастаясь, приводили к нарушению дыхания и глотания (рисунок 5). У таких кроликов захват, пережевывание и проглатывание кормов были затруднены, животные выглядели истощенными.

В некоторых случаях хозяева сообщали о том, что опухоли постепенно уменьшались и животное выздоравливало. Однако нередко, спустя 1–3 месяца, по различным причинам на этом же месте актиномикомы развивались повторно.

Рисунок 5 – Актиномикома в подкожной клетчатке

тельнотканными перегородками, рассекали по ходу свищевых ходов с дальнейшим применением гипертонических препаратов для ускоренного очищения гнойной раны.

Неплохой лечебный результат дала следующая схема. После удаления наружных гнойных секвестров (рисунок 6), проводили тщательную санацию глубоких актиномикозных полостей 0,5% водным раствором декамтоксина.

Рисунок 6 – Гнойный секвестр кожи актиномикозного очага



В дальнейшем раневые каналы заполняли 1% йодопионовой мазью. Мазь применяли 1 раз в сутки до полной очистки очага от гнойного содержимого.

При вовлечении в патологический процесс нижней челюсти дополнительно проводили трепанацию и кюретаж, а при наличии мёртвой ткани – секвестрэк-

мию кости. Для санации кожи и шерсти вокруг раны использовали «Чемиспрей» (рисунки 7, 8).

В постоперационный период проводили антибактериальную (препараты тилозина, энрофлоксацина) и обменно-стимулирующую терапию (препараты бутафосфана).



Рисунки 7, 8 – Хирургическое удаление Актиномиком и обработка раны

За кроликами после лечения установили наблюдение, через месяц после лечения раны заживали. Однако у трёх кроликов снова появлялись плотные образования на предыдущем или на другом месте в период от одного до трех месяцев.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований нами были выделены основные причины, провоцирующие возникновение актиномикоза. К ведущему предрасполагающему фактору мы отнесли принадлежность кроликов к определенной породе. Все заболевшие кролики были ангорской породы или носителями рецессивного гена, который обеспечивает длинную шерсть.

Еще одним важным фактором возникновения актиномикоза у декоративных кроликов является кормление животных некачественными грубыми кормами и, как следствие, – множественные микротравмы слизистой оболочки ротовой полости. По словам хозяев, сено для подстилки и кормления не всегда было высокого качества

(часто имело место изменение цвета и наличие плесени). Скармливание сена, пораженного грибками, не только ослабляет резистентность организма животных к инфекционным заболеваниям. Известно, что продукты метаболизма плесневых грибов облегчают проникновение и размножение других грибов. Это может привести к инокуляции (интеграции) в организм актиномицетов через микротрещинки и микроранки слизистой оболочки и способствовать переходу актиномицета-сапрофита к паразитическому образу жизнедеятельности.

По мнению отдельных исследователей возбудителями актиномикоза являются не актиномицеты, а проактиномицеты, которые в условиях внутритканевого развития могут деформироваться, изменяться морфологически и давать различные варианты или в сторону упрощения строения клеток – микобактериальный, или в сторону усложнения – типа актиномицетов [5].

При актиномикозе, как и при большинстве других инфекционных заболеваний, имеет значение не только возбуди-

тель, но и его взаимоотношения с другими микроорганизмами, присутствующими в организме, или с теми, которые попадают в него извне. Существенную роль в распространении и течении актиномикозного процесса играет условно-патогенная микрофлора. В зарегистрированных случаях ведущую роль осуществляют стафилококки. Пиогенные микроорганизмы, выделяя гиалуронидазу и расплавля соединительную ткань, могут способствовать распространению процесса по подкожной клетчатке. Результаты наших исследований подтвердили, что в ряде случаев под влиянием неспецифической микрофлоры могут изменяться свойства актиномицетов, что затрудняет диагностику и лечение заболевания. Часто патологический процесс продолжался даже в том случае, когда возбудитель отсутствовал. Поэтому в некоторых случаях актиномицеты являются лишь пусковым механизмом заболевания. Учитывая существенное влияние условно-патогенной микрофлоры на клиническое течение актиномикоза, некоторые авторы различают две стадии заболевания: в первой ведущую роль отводят пиогенным микроорганизмам, во второй – актиномицетам [6].

При проведении экспериментов по изучению патогенности изолированных видов актиномицетов было обследовано большое число штаммов. Испытывались анаэробные и аэробные штаммы, выделенные из актиномикозных узлов рогатого скота и больных людей, и заражались ткани и органы кролика. Были штаммы с фиолетовой окраской группы *Act. violaceus* и бесцветные, с белым воздушным мицелием, культуры обнажения, без воздушного мицелия, и культуры с хорошо развитым воздушным мицелием [7]. При посеве на агар Чапека регистрировались бесцветные, беловатые или голубые колонии актиномицетов с хорошо развитым мицелием.

Нашими исследованиями установлено, что у кроликов наиболее распространенной является челюстно-лицевая форма актиномикоза, что является результатом

проникновения возбудителя в подкожную клетчатку из ротовой полости или глотки. Чаще всего патологический процесс локализуется в межчелюстном пространстве, реже – актиномиком была сращена с костью нижней челюсти.

Клинически болезнь проявлялась образованием плотных опухолей, на поверхности которых периодически формируются фистульные ходы. У некоторых животных появляется неправильный прикус и удаление зубов.

Хирургическое лечение актиномикоза и курс антибиотикотерапии у кроликов обеспечили выздоровления 85 % больных животных. Лечение было эффективным лишь в случаях ограниченных актиномиком и локализации их в подкожной клетчатке. При вовлечении в актиномикозный процесс кости патологический процесс возобновлялся со временем (три недели – месяц) несмотря на отсутствие актиномицетов. В этом случае ведущими в патологическом процессе были стафилококки. Для санации очага от возбудителя применяли декамтоксин, который показан при гнойных и грибковых поражениях кожи (абсцессах, гнойных ранах, кандидозах).

Наиболее эффективным средством, действующим на актиномицеты, является йод и его препараты [8, 9]. Поэтому для лечения многоканальных фистульных, сложных актиномиком использовали 1% йодопионовую мазь, которая при местном применении оказывает бактерицидное, фунгицидное, вирулицидное действие, включая микрофлору с полирезистентностью к химиотерапевтическим препаратам. Препарат обладает противовоспалительным действием, обусловленным гиперосмолярными свойствами гидрофильной мазевой основы. Поэтому применяется в хирургии для лечения гнойно-воспалительных процессов мягких тканей различной локализации и генеза, в том числе в дерматологии для лечения инфекционных, воспалительных заболеваний кожи, вызванных бактериями, грибами и вирусами.

Как стимулятор обмена веществ применяли препарат «Catosal» (Bayer, Германия). Он обладает тонизирующими свойствами, нормализует метаболические и регенеративные процессы, обладает стимулирующим действием на белковый, углеводный и жировой обмен веществ, повышает резистентность организма к неблагоприятным факторам внешней среды, способствует росту и развитию животных.

ВЫВОДЫ

1 Все 20 животных с симптомами актиномикоза были кролики ангорской породы. Поэтому к ведущему предрасполагающему фактору мы отнесли принадлежность кроликов к определенной породе. Еще одним важным фактором возникновения болезни является кормление животных некачественными грубыми кормами.

2 Лечение актиномикоза у декоративных кроликов проводили с учетом локализации патологического процесса. Во всех

случаях были применены хирургические методы. Хирургическое лечение актиномикоза и курс антибиотикотерапии у кроликов обеспечили выздоровление 85% больных животных. Лечение было эффективным лишь в случаях ограниченных актиномиком и локализации их в подкожной клетчатке. При вовлечении в актиномикозный процесс кости патологический процесс возобновлялся со временем (три недели – месяц) несмотря на отсутствие актиномицетов. В этом случае ведущими в патологическом процессе были стафилококки.

3 Для лечения многоканальных фистульных, сложных актиномиком использовали 1% йодопионовую мазь, которая при местном применении оказывает бактерицидное, фунгицидное, вирулицидное действие, включая микрофлору с полирезистентностью к химиотерапевтическим препаратам. Как стимулятор применяли препарат «Catosal».

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Бурова, С. А. Актиномикоз // *Русский медицинский журнал. Хирургия, дерматология.* – 2001. – Т. 9. – № 3–4.
- 2 Красильникова, Н.А. Жизнь растений. Т. 1. Введение. Бактерии и актиномицеты / Н.А. Красильников, А.А. Уранов [ред.] – М.: «Просвещение», 1974. – 551 с.
- 3 Берестнев, Н.М. Актиномикоз и его возбудители. М.: «Просвещение», 1897. – 236 с.
- 4 Ильченко, Д.В. Актинобациллез (лигнереллез) и актиномикоз крупного рогатого скота / Д.В.Ильченко, В.И.Ильченко // *Научная мысль Кавказа. Северо-кавказский научный центр высшей школы* – Ростов-на-Дону-2004. – №3 – С. 139–142.
- 5 Хмельницкий, О. К., Хмельницкая, Н. М. Патоморфология микозов человека. – СПб.: Издательский дом СПбМАПО. – 2005.–432 с.
- 6 Билай, В.И. Методы экспериментальной микологии . Справочник / под ред. В.И. Билай // Киев.: Наук .думка, 1982.–552 с.
- 7 Желдакова, Р.А. Выделение и идентификация микроорганизмов: учеб.-метод. Пособие/ Р.А. Желдакова // Мн.: БГУ, 2003. –27 с.
- 8 Ильченко, В.И. Лечение животных при актиномикозе /В.И.Ильченко //Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и перспективы развития АПК» – Персиановский: ДонГАУ, 2005. – Т.3. – С. 80–82.
- 9 Ильченко, В.И. БИОМ, йодистые и другие препараты в консервативном способе лечения крупного рогатого скота при актиномикозе / В.И. Ильченко, И.И. Михайлова, Т.Р. Лещенко // Материалы Международной научно-практической конференции «Развитие инновационного потенциала агропромышленного производства науки и аграрного образования». – п. Персиановский, 2009. – Т. 3. – С. 62 – 64.

УДК: 619:597.22

Зайцева В.В., магистр биологических наук

Филиал РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского» на
ОАО «БелВитунифарм», г. Витебск

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ УГЛЕВОДОВ ТРИХОФИТОНОМ НА СРЕДАХ РАЗНОГО СОСТАВА

Резюме

В ходе проведенных исследований дана оценка эффективности использования углеводов трихофитом на разных средах и с разным уровнем содержания сахаров. Установлен уровень утилизации углеводов трихофитом на средах с разным уровнем содержания сахаров.

По результатам проведенной работы установлено, что наиболее высокая продуктивность по мицелию ($9,6-9,86 \text{ г/дм}^3$) и спорогенезу ($194,9-200,7 \text{ млн/см}^3$) при высоком экономическом коэффициенте по углеводам ($0,187-0,2$) установлена на средах, содержащих 2,5% содержимого куриного яйца, 5,0% Бионорма Б, 5,0% Бионорма В и 6,0-6,2% сахаров. А наиболее высокая продуктивность по мицелию ($8,0-9,6 \text{ г/дм}^3$) и спорогенезу ($162,5-188,6 \text{ млн/см}^3$) отмечалась у *Tr. mentagrophytes* № 135 на средах, содержащих 6,04-6,08% углеводов и обогащенных содержимым куриного яйца, Бионормом Б и Бионормом В при обеспечении высокого экономического коэффициента по углеводам.

Summary

The paper assesses the effectiveness of carbohydrates consumption by trihophyton in different environments and with different levels of sugars. The level of carbohydrate utilization by the fungus on media with different levels of sugars was determined.

The results revealed that the highest productivity of mycelium ($9,6-9,86 \text{ g/dm}^3$) and sporogenesis ($194,9-200,7 \text{ million/cm}^3$) with a high economic index for carbohydrates ($0,187-0,2$) is achieved on media containing 2,5% hen's egg contents, 5,0% Bionorm B, 5,0% Bionorm V and 6,0-6,2% sugar. And the highest productivity of mycelium ($8,0-9,6 \text{ g/dm}^3$) and sporogenesis ($162,5-188,6 \text{ million/cm}^3$) was observed in *Tr. mentagrophytes* № 135 on media containing 6,04-6,08% carbohydrates and enriched with egg's components, Bionorm B and Bionorm V while maintaining a high economic index for carbohydrates.

Поступила в редакцию 16.03.2016 г.

ВВЕДЕНИЕ

Главной целью культивирования трихофитона на определенных питательных субстратах является изучение их морфологии, физиологии и накопления биомассы для изготовления биопрепаратов.

Культурально - морфологические свойства грибов обычно характеризуются по следующим признакам: форма и размер колоний, цвет, характер роста, профиль, консистенция, структура [7].

Анализируя источники литературы о современном состоянии проблемы трихофитии животных, можно указать, что многие вопросы, касающиеся выращивания трихофитона, еще до конца не решены.

Для культивирования гриба используют различные специальные среды, но

большинство из них являются модификацией питательной среды Сабуро.

Грибы дают глубокие, мощные ветвления в субстрат [3, 8]. И при культивировании трихофитона важным является не только угнетение банальной микрофлоры, но и стимуляция роста разными методами.

Углеводы, как известно, являются важнейшим компонентом питательной среды для микроорганизмов. Эти соединения играют роль как источников энергии, так и строительного материала для клеток. При конструировании питательных сред для микроорганизмов обычно исходят из имеющейся информации об их систематическом положении, наличии той или иной энзиматической системы и способов культивирования.

Под названием углеводы объединяют огромное количество соединений от моносахаридов до высокополимерных природных веществ. В зависимости от вида микроорганизма и ферментной системы, которой обладает тот или иной микроорганизм, углеводы могут быть ими утилизированы в той или иной мере.

В биотехнологии обычно в качестве источника углеводов в питательные среды вносят мелассу, патоку, сусло ячменное и др. и индивидуальные сахара (глюкоза, сахароза, лактоза и др.).

Телишевская Л.Я. с соавторами установили, что для большинства культур вида *Tr. verrucosum* наиболее благоприятным является значение pH сусло-агара, равное 6,0–6,5 при концентрации сахаров $7,6 \pm 0,45\%$. Эти авторы утверждают, что для обильного роста культуры *Tr. verrucosum*, по-видимому, желательны наличие комплекса аминокислот, хотя незаменимыми могут быть несколько из них. По данным указанных авторов, гриб *Tr. verrucosum* при росте на сусло-агаре потребляет 2,0% сахаров, все аминокислоты и некоторое количество фосфора. На основании своих данных они предполагают, что при создании новой питательной среды для грибов должен быть предусмотрен некоторый избыток аминокислот, более 2,0% углеводов, а фосфора – не менее 10 мг% [6].

Согласно данным Головиной Н.П. испытуемые штаммы различных видов рода *Trichophyton* более интенсивно растут в присутствии глюкозы и фруктозы [1, 2].

Саркисовым К.А. при добавлении в сусло-агар 5,0%-ных растворов глюкозы, фруктозы, маннозы у культур, принадлежащих к роду *Trichophyton*, наблюдали наибольшую биохимическую активность по сравнению с ростом этих же культур, засеянных на ту же питательную среду с добавлением 5,0%-ных растворов ксилозы, инулина и дульцита [4, 5].

Однозначно установлено влияние физико-химических условий, температуры,

количества и соотношения микроэлементов, ионной силы раствора на метаболизм углеводов. В зависимости от состава минеральных компонентов, концентрации углеводов, температуры и других факторов пути биохимического превращения и накопления энергии и сам состав клеток может варьировать в широких пределах.

Исследования, посвященные теме культивирования трихофитона с целью определения оптимального способа накопления достаточного количества биомассы с выраженным спорогенезом, в стране не проводились.

Цель настоящей работы – изучить эффективность использования углеводов трихофитом на средах разного состава.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнялась на филиале РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» и ОАО «БелВитунифарм». Объектом исследований явились штаммы гриба *Trichophyton verrucosum* № 130 (*Tr. verrucosum* № 130) и *Trichophyton mentagrophytes* № 135 (*Tr. mentagrophytes* № 135).

В качестве питательной основы использовали сусло, приготовленное из пропущенного пивного ячменя. Полученное неохмеленное пивное сусло разливали в стеклянные баллоны и стерилизовали при температуре 115–117°C в течение 40 мин. Далее пивное сусло разбавляли очищенной водой до 6,0% содержания сахаров по Баллингу. Значение pH сусла до стерилизации устанавливали в пределах 7,6–7,8 путем добавления 10,0%-ного раствора бикарбоната натрия и вносили 2,0% агар-агара. Смесь нагревали до температуры 90–92°C для полного растворения агара. Далее сусло-агар стерилизовали при температуре 112–116°C в течение 30–40 мин.

Для культивирования трихофитона были испытаны сусло-агар и его модификации, содержащие 2,5% содержимого куриного яйца, 5,0 препарата «Бионорм Б» (препарат, содержащий биологически ак-

тивные компоненты торфа), 5,0% препарата Бионорм В (препарат, содержащий биологически активные компоненты бурых водорослей), 1,0% сухого молока, 5,0% препарата «ПулСал» (препарат, изготовленный на основе полисахаридов сальмонелл), 2,0% препарата «Флоравит» (препарат, полученный из мицелиального гриба *Fusarium sambucinum*), 2,0 сухого экстракта дрожжей и 2,0% автолизата пивных дрожжей. Важным показателем явился экономический коэффициент по углеводам, т.е. количество образовавшейся биомассы гриба на единицу утилизированного углерода.

Оптимизацию компонентного состава питательной среды проводили традиционными микробиологическими и биохимическими методами, основанными на законах, описывающих протекание фундаментальных процессов микробиосинтеза (процесс размножения несовершенного гриба рода *Trichophyton*, накопления биомассы и микроконидий, изменение содержания компонентов питательной среды).

В своих исследованиях мы изучали влияние углеводов ячменного суслу на развитие культур гриба трихофитон. При этом в динамике контролировали общее количество углеводов спектрофотометрически с помощью заранее построенной калибровочной кривой. Этот метод позволяет за относительно короткий период времени провести множество анализов с относительно высокой точностью. Для определения суммы углеводов калибровочный график был построен на основе глюкозы, и он демонстрирует наличие строгой прямой зависимости между оптической плотностью и концентрацией углеводов.

Накопление биомассы гриба в динамике развития контролировали методом доведения до постоянного веса в сушильном шкафу при температуре 105°C, для чего культуры гриба, выращенные на средах разного состава, снимали скребком. Затем сушили биомассу гриба до постоянного значения при температуре 105°C и

взвешивали на электронных весах.

Для подсчета количества клеток содержимое из каждого разведения заряжали в камеру Горяева. Подсчет вели в 5 больших квадратах (4 по углам и 1 в центре). Содержание клеток в 1 см³ суспензии определяли по формуле (1):

$$K = \frac{П + В}{2} * p * 10^4 * 5, \text{ где} \quad (1)$$

К – искомое число клеток;

П – количество клеток в 5 больших квадратах первой сетки;

В – число клеток в 5 больших квадратах второй сетки;

p – разведение (в 10, 20 или 40 раз).

После подсчета клеток в исходной суспензии концентрацию последних доводили до 1×10⁸. Далее готовили ряд последовательных 10-кратных разведений (1:10⁻¹; 1:10⁻² и т.д.). Вначале в 5 пробирок наливали по 4,5 мл стерильного физиологического раствора. В первую из них вносили 0,5 см³ исследуемой суспензии клеток, тщательно перемешивали и новой пипеткой брали по 0,5 см³ взвеси этого разведения и переносили во вторую и т.д., каждый раз используя новую пипетку.

Таким образом, концентрация клеток в каждой последующей пробирке уменьшалась в 10 раз и составила в первой 1×10⁷, во второй – 1×10⁶, в третьей – 1×10⁵ и т.д.

Для определения количества жизнеспособных микроконидий культуры гриба разных штаммов, выращенных на средах разного состава, ресуспендировали в физиологическом растворе и гомогенизировали в течение 5 мин в стерильной камере гомогенизатора. Проверку проводили через 30 минут после ресуспендирования культур гриба. Предварительно в шесть пробирок наливали по 4,5 см³ стерильного растворителя. Пипеткой брали 0,5 см³ суспензии гриба и вносили в первую пробирку, перемешивали содержимое пробирки и новой пипеткой брали 0,5 см³ содержимого из первой пробирки и переносили во вторую пробирку и т.д., то есть, готовили

разведения от 10^{-1} до 10^{-6} .

Из разведений культуры гриба 10^{-4} , 10^{-5} и 10^{-6} производили посев на сусло-агар в чашках Петри. Для чего из каждого разведения культуру гриба набирали пипеткой по $0,5 \text{ см}^3$ суспензии и засеивали в каждую из трех чашек Петри с сусло-агаром. Легким покачиванием чашки равномерно распределяли суспензию по поверхности питательной среды. Засеянные чашки помещали в термостат при температуре $26\text{--}28^\circ\text{C}$ на 8–9 суток.

Количество выросших колоний гриба подсчитывали на 8–9 сутки визуально. Суммировали количество выросших колоний в трех чашках Петри. Полученную сумму делили на 3 и умножали на степень разведения, полученный результат соответствует количеству жизнеспособных микроконидий в культуре гриба.

Утилизацию углеводов в динамике развития гриба контролировали с помощью антронового метода. Антроновый реактив готовили следующим образом: в мерную колбу через воронку добавляли $0,2 \text{ г}$ антрона, а затем серную кислоту до метки (объем колбы $1,0 \text{ дм}^3$). Далее определяли количество сахаров: в химически чистые пробирки вносили антроновый реактив в количестве $2,0 \text{ дм}^3$ и $1,0 \text{ см}^3$ среды до засева и после смыва грибной массы. Далее пробы ставили на водяную баню на 15–20 минут. Пробы охлаждали и определяли оптическую плотность при $620\text{--}625 \text{ нм}$ на спектрофотометре РД-303 UV.

Выбор антронового метода определения углеводов (из множества имеющихся на сегодня) можно объяснить его универсальностью.

Как известно, любой биотехнологический процесс, основанный на культивировании микроорганизмов, в определенной мере может быть качественно оценен по экономическим коэффициентам входящих в состав среды ингредиентов. Эти показатели дают информацию об эффективности использования компонентов среды. На основе изложенных выше данных рас-

считан экономический коэффициент по углеводам (формула 2):

$$Y_1 = \Delta X_1 / \Delta S_1 = 8,9 / 15,635 = 0,57, \text{ где (2)}$$

ΔX_1 – количество накопленной биомассы;
 ΔS_1 – количество утилизированного углевода.

Важным элементом оптимизации технологического процесса является выбор критерия эффективности. В качестве критерия эффективности использовали такие показатели, как количество мицелия и микроконидий в единице среды, жизнеспособность микроконидий, индекс мицелие- и спорообразования, содержание микроконидий в единице биомассы сухого мицелия.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе проведенных исследований установлено, что на сусло-агаре, содержащем в своем составе 2,5% содержимого куриного яйца и 5,3; 6,2; 7,0 и 8,1% сахаров, *Tr. verrucosum* № 130 через 15 суток утилизировал 81,1–82,3% углеводов.

В средах, содержащих 6,2% и 7,0% сахаров, экономический коэффициент утилизации (ЭКУ) углеводов составил соответственно 0,193 и 0,168. При культивировании *Tr. verrucosum* № 130 на среде с компонентами куриного яйца, содержащей 5,3% и 8,1% сахаров, ЭКУ углеводов составил соответственно 0,16 и 0,145.

Таким образом, при содержании в среде 6,2% сахаров у *Tr. verrucosum* № 130 отмечался высокий уровень биосинтеза биомассы ($9,6 \text{ г/дм}^3$), образование спор ($198 \text{ млн. спор/см}^3$ среды) с высоким экономическим коэффициентом по углеводам.

На сусло-агаре, содержащем 5,0% Бионорм Б и 5,1–8,3% сахаров, *Tr. Verrucosum* № 130 в течение 15 суток утилизировал 80,0–81,9% их количества. При этом наиболее высокий биосинтез мицелия ($9,7 \text{ г/дм}^3$) и образование микроконидий $194,8 \text{ млн/см}^3$ среды у *Tr. verrucosum* № 130 отмечалось при самом высоком коэффициенте использования сахаров 0,2.

Как при повышении до 8,1%, так и снижении концентрации сахаров в среде с Бионорм Б отмечается снижение коэффициента их использования до 0,140–0,166. В средах с Бионормом В и разным содержанием сахаров (5,0–7,9%) *Tr. verrucosum* № 130 утилизировал последние на 79,2–82,6%.

У *Tr. verrucosum* № 130 при минимальном уровне образования мицелия (6,53 г/дм³) и спорообразования (160 млн/см³) экономический показатель использования углеводов был 0,165.

Несколько более высокий данный показатель выявлен у *Tr. verrucosum* № 130 на сусло-агаре с 5,12% и 7,04% сахаров и сусло-агаре с экстрактом дрожжей, автолизатом пивных дрожжей (содержание 8,04–8,1% углеводов) и среде с Флоравитом (7,05% углеводов), который составил 0,09–0,1.

На сусло-агаре с Флоравитом рационально использовались сахара (коэффициент по углеводам 0,11) *Tr. verrucosum* № 130 при уровне их содержания в среде 5,08–6,0%.

В сусло-агаре, содержащем 5,98–

6,04% сахаров, обогащенном экстрактом и автолизатом дрожжей *Tr. verrucosum* № 130 наиболее рационально использовал углеводы (коэффициент 0,15–0,165).

Минимальный коэффициент по утилизации углеводов (0,149) установлен у *Tr. verrucosum* № 130 при содержании в среде 8,3% сахаров, а максимальный (0,187) – при их внесении до 6,2%.

В сусло-агаре, обогащенном сухим молоком или ПулСалом и содержащем 5,18–8,31% углеводов, *Tr. verrucosum* № 130 утилизировал сахара на 82,2–84,5%. При этом на среде, обогащенной сухим молоком и ПулСалом, содержащей 6,0–6,04% сахаров, *Tr. verrucosum* № 130 наиболее рационально использовал углеводы, т.к. экономический коэффициент по углеводам составил соответственно 0,15 и 0,177.

Самый низкий экономический коэффициент по углеводам (0,08) у *Tr. verrucosum* № 130 установлен на сусло-агаре, содержащем 7,98% сахаров и сусло-агаре с Флоравитом, содержащем 8,06% углеводов. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Оценка эффективности использования углеводов грибом *Tr. verrucosum* № 130 на средах разного состава

Состав среды	Содержание углеводов, г/дм ³		Утилизация углеводов		Концентрация сухого мицелия в среде, г/дм ³	Концентрация микрокониций, млн/см ³	Экономический коэффициент по углеводам
	в среде	в культуральной жидкости	г/дм ³	%			
Сусло-агар + 2,5% содержимого куриного яйца	1	2	3	4	5	6	7
	81,0	15,0	66	81,5	9,6	189,3	0,145
	70,0	13,0	57	81,4	9,6	193,3	0,168
	62,0	11,0	51	82,3	9,86	198	0,193
Сусло-агар +5,0 % Бионорм Б	53,0	10,0	43	81,1	6,9	165,3	0,16
	83,0	15,0	68	81,9	9,5	183	0,14
	71,0	13,0	58	81,7	9,5	190	0,164
	60,0	12,0	48	80,0	9,7	194,8	0,2
Сусло-агар +5,0 % Бионорм-В	51,0	10,0	41	80,4	6,8	163,3	0,166
	79,0	14,8	64,2	81,3	9,57	185,7	0,149
	70,0	13,2	56,8	81,1	9,5	193,0	0,167
	62,0	10,8	51,2	82,6	9,6	200,7	0,187
	50,0	10,4	39,6	79,2	6,53	160,3	0,165

Продолжение таблицы 1

	1	2	3	4	5	6	7
Сусло-агар 1,0 % сухого молока	83,1	14,8	68,3	82,2	7,2	122,0	0,11
	71,0	13,3	57,7	81,3	7,5	138,0	0,13
	60,0	10,7	49,3	82,2	7,4	150,2	0,15
	51,5	8,2	43,3	84,1	5,5	127,7	0,13
Сусло-агар 5,0% ПулСала	81,2	12,6	68,6	84,5	8,4	139,7	0,12
	70,1	12,2	57,9	82,6	8,53	152,3	0,147
	60,4	10,6	49,8	82,5	8,8	164,5	0,177
	51,8	8,0	43,8	83,0	6,33	130,3	0,145
Сусло-агар + 2,0% Флоравита	80,6	12,5	68,1	84,5	5,4	112,7	0,08
	70,5	13,1	57,4	81,4	5,7	117,0	0,10
	60,0	11,5	49,5	82,5	5,6	132,5	0,11
	50,8	7,5	43,3	85,2	4,6	105,7	0,11
Сусло-агар 0,2% сухого экстракта дрожжей	80,4	13,8	66,6	82,8	6,3	112,3	0,095
	69,6	14,0	55,6	79,9	6,7	118,0	0,12
	59,8	11,3	48,5	81,1	7,4	147,1	0,15
	50,6	8,4	42,2	83,4	5,67	120,0	0,13
Сусло-агар +2,0% автолизата пивных дрожжей	81,0	16,6	64,4	79,5	6,2	125,0	0,096
	70,2	16,1	54,1	77,1	6,33	136,0	0,117
	60,4	13,1	47,3	78,3	7,8	162,0	0,165
	50,2	8,6	41,6	82,9	5,4	126,0	0,130
Сусло-агар (контроль)	79,8	17,6	61,9	77,6	4,97	74,0	0,08
	70,4	16,7	53,7	76,3	5,07	80,7	0,09
	59,6	14,7	44,9	75,4	5,0	88,8	0,11
	51,2	8,1	43,1	84,2	4,1	72,0	0,095

Экономический коэффициент утилизации углеводов *Tr. mentagrophytes* № 135 зависит от уровня их содержания в среде. При содержании в средах 4,96–8,15% углеводов *Tr. mentagrophytes* № 135 утилизирует их на 75,1–85,0%. В среде с компонентами куриного яйца максимальный экономический коэффициент по углеводам был у *Tr. mentagrophytes* № 135 (0,16) при содержании в среде 6,06%, а минимальный (0,11) – при содержании 8,06% сахаров. Промежуточное положение занимает среда, содержащая 7,0% сахаров и 2,5% компонентов куриного яйца.

Максимальный экономический коэффициент по углеводам (0,19–0,2) был на средах с Бионорм Б, Бионорм В и ПулСа-

лом и при содержании 6,04–6,08% сахаров. При этом в средах данного состава отмечено максимальное накопление спор 185,2–188,6 млн/см³ и биомассы *Tr. Menta-gro-phytes* № 135 9,5–9,6 г/дм³.

Среды с сухим молоком, сухим экстрактом дрожжей и автолизатом пивных дрожжей и содержанием 6,02–6,12% углеводов обеспечивали экономический коэффициент утилизации сахаров у *Tr. Menta-grophytes* № 135 0,15–0,16. При концентрации углеводов (8,04–8,15%) экономический коэффициент их утилизации у *Tr. mentagrophytes* № 135 снижался до значения 0,09–0,11, а при их снижении до 4,96–5,01% показатель составил 0,12–0,13 (таблица 2).

Таблица 2 – Оценка эффективности использования углеводов грибом *Tr. mentagrophytes* № 135 на средах разного состава

Состав среды	Содержание углеводов, г/дм ³		Утилизация углеводов		Концентрация сухого мицелия в среде, г/дм ³	Концентрация микро-конидий, млн/см ³	Экономический коэффициент по углеводам
	в среде	в культуральной жидкости	г/дм ³	%			
Сусло-агар +2,5 % содержимого куриного яйца	80,6	15,2	65,4	81,1	7,2	142,3	0,11
	70,2	13,3	56,9	81,1	7,4	152,7	0,13
	60,6	10,9	49,7	82,0	8,0±0,1	162,5	0,16
	51,0	9,8	41,2	80,7	5,4	125,3	0,13
Сусло-агар +5,0% Бионорм Б	81,2	15,0	66,2	81,5	8,63	155,7	0,13
	71,0	13,3	57,7	81,3	9,0	180	0,16
	60,4	11,3	49,1	79,5	9,6±0,1	185,2	0,20
	50,5	10,1	40,4	80,0	6,4	155,3	0,16
Сусло-агар +5,0% Бионорм В	79,2	14,1	65,1	82,2	8,5	138,0	0,13
	70,3	12,9	57,4	81,6	9,0	150,0	0,16
	60,8	11,4	49,4	81,3	9,5±0,1	188,6	0,19
	50,5	9,9	40,6	80,3	6,17	144,3	0,15
Сусло-агар +1,0% сухого молока	80,8	14,9	65,9	81,6	7,1	117,7	0,11
	71,0	13,7	57,3	80,7	7,4	128,3	0,13
	60,2	11,2	49,0	81,4	7,4±0,1	145,7	0,15
	50,1	7,3	42,5	84,8	5,17	122,3	0,12
Сусло-агар +5,0% ПулСала	80,0	13,8	66,2	82,8	8,4	140,0	0,13
	70,1	13,0	57,1	81,5	8,8	162,0	0,15
	60,5	11,4	49,1	81,1	9,5±0,1	188,2	0,19
	50,2	8,2	42,0	83,7	6,3	150,0	0,15
Сусло-агар +2,0% Флоравита	80,8	13,1	67,7	83,8	5,4	102,3	0,08
	70,4	13,4	57,0	81,0	5,7	112,3	0,1
	61,1	11,1	50,0	81,8	6,0±0,05	131,1	0,12
	51,4	7,7	43,7	85,0	4,3	104,7	0,1
Сусло-агар +0,2% сухого экстракта дрожжей	80,4	14,4	66,0	82,1	6,1	112,7	0,09
	71,2	14,0	57,2	80,4	6,5	112,7	0,11
	61,2	11,4	49,8	81,3	7,7±0,1	142,7	0,15
	49,6	8,0	41,6	83,8	5,5	117,7	0,13
Сусло-агар +2,0% автолизата пивных дрожжей	81,5	16,9	64,6	79,3	6,2	123,0	0,096
	70,8	16,6	54,2	76,5	6,4	132,7	0,12
	60,5	12,8	47,7	78,8	7,7±0,05	155,1	0,16
	50,2	8,4	41,8	83,3	5,2	117,3	0,12
Сусло-агар (контроль)	80,2	17,6	62,6	78,0	4,8	76,0	0,08
	70,5	16,4	54,1	76,8	5,0	80,7	0,09
	60,8	15,1	45,7	75,1	5,0±0,1	87,3	0,11
	50,5	8,3	42,2	83,5	4,1	72,0	0,1

Из таблицы 2 видно, что в сусло-агаре и среде с Флоравитом самый низкий экономический показатель по углеводам (0,08) установлен у *Tr. Mentagrophytes* № 135 при содержании в средах 8,02–8,08% сахаров. Наиболее высокий экономический показатель (0,11–0,12) на этих средах установлен у *Tr. mentagrophytes* № 135 при уровне содержания сахаров в них в пределах 6,08–6,11%.

ВЫВОДЫ

1 При изучении динамики накопления биомассы гриба *Tr. verrucosum* № 130 на средах разного состава и содержания сахаров установили, что наиболее высокая

продуктивность по мицелию (9,6–9,86 г/дм³) и спорогенезу (194,9–200,7 млн/см³) при высоком экономическом коэффициенте по углеводам (0,187–0,2) установлена на средах, содержащих 2,5% содержимого куриного яйца, 5,0% Бионорма Б, 5,0% Бионорма В и 6,0–6,2% сахаров.

2 Наиболее высокая продуктивность по мицелию (8,0–9,6 г/дм³) и спорогенезу (162,5–188,6 млн/см³) отмечалась у *Tr. mentagrophytes* № 135 на средах, содержащих 6,04–6,08% углеводов и обогащенных содержимым куриного яйца, Бионормом Б и Бионормом В при обеспечении высокого экономического коэффициента по углеводам.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Головина, Н.П. Сравнительное изучение роста и спорообразования культур дерматофитов на различных питательных средах / Н.П. Головина, Л.Г. Иванова // Бюлл. ВИЭВ. – М., 1983. – Вып. 49. – С. 92–95.
- 2 Головина, Н.П. Биология возбудителя *Trichophyton verrucosum* var. *autotrophicum* и разработка вакцины против трихофитии овец : дис. ... докт. биол. наук : 16.00.24 / Н.П. Головина ; ВИЭВ. – М., 1991. – С. 15–25.
- 3 Овчинников, Р.С. Изучение изменчивости морфологических характеристик дерматофитов / Р.С. Овчинников // Вестник РАСХН. – № 5. – 1999. – С. 37–39.
- 4 Саркисов, К.А. Влияние некоторых углеводов на энергию роста дерматофитов / К.А. Саркисов // Сб. науч. тр. ВГНКИ. – 1990. – С. 169–175.
- 5 Саркисов, К.А. Углеводное питание зооантропонозных дерматофитов / К.А. Саркисов // Сб. науч. тр. ВГНКИ. – 1994. – Т. 55. – С. 88–94.
- 6 Телишевская, Л.Я. Особенности культивирования *Trichophyton verrucosum* Bodin на суло-агаре / Л.Я. Телишевская, К.П. Летагин, Е.И. Химишман // С/х биология. – 1983. – С. 112–114.
- 7 Ajello, L. Cultural methods for human pathogenic fungi / L. Ajello // J. Chronic Diseases. – № 5. – 1989. – P. 5.
- 8 Star, R. Colony formation in algae / R. Star // Cell. Interact. Berlin. – 1984. – P. 261–282.

ПРИМАНКА ВАКЦИНОСОДЕРЖАЩАЯ АНТИРАБИЧЕСКАЯ ДЛЯ ПЕРОРАЛЬНОЙ ИММУНИЗАЦИИ ДИКИХ ПЛОТОЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ

- ⇒ применяется в осенне-зимний и зимне-весенний периоды: образцы раскладываются в местах обитания животных в количестве из расчета 15–20 штук на 1 км²;
- ⇒ в течение 25–30 суток после поедания вызывает у животных выработку иммунитета к бешенству, который сохраняется до 1 года.



УДК 619: 578.835.1: 636.4

Музыкина Л. Н., заместитель заведующего лабораторией
Романенко В. Ф., доктор ветеринарных наук, академик НААН

Институт ветеринарной медицины НААН Украины, г. Киев

ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ ЭНТЕРОВИРУСОВ СВИНЕЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ В ХОЗЯЙСТВАХ УКРАИНЫ

Резюме

Энтеровирусы свиней широко распространены среди свиноголовья Украины и вызывают такие болезни, как энзоотический энцефаломиелит (болезнь Тешена) свиней, энтеровирусный гастроэнтерит, энтеровирусную пневмонию и другие. Основные морфологические, биологические, физико-химические и антигенные свойства энтеровирусов свиней были установлены в 60-70-х годах XX века и были положены в основу их международной классификации.

Результаты изучения распространения энтеровирусов в свиноводческих хозяйствах Украины являются определяющими при разработке методов и средств борьбы и профилактики энтеровирусных болезней свиней.

В результате проведенных исследований выделено 20 изолятов энтеровирусов свиней. Определены их цитопатическое действие и инфекционная активность в культуре клеток СПЭВ. Выделенные вирусы имели антигенные связи с 10–18 специфическими сыворотками к референтным штаммам энтеровирусов свиней коллекции В. Ф. Романенко. Проведенные опыты подтверждают устойчивость выделенных изолятов к действию трипсина и хлороформа, а также термостабильность при 56°C в присутствии 1М MgCl₂ и устойчивость к средам со значением pH 3 и 10.

Summary

Enteroviruses of pigs are widespread among pig farms Ukraine and cause such diseases as enzootic encephalomyelitis (Teschen disease), swine enteroviral gastroenteritis, pneumonia and other. The main morphological, biological, physical, chemical and antigenic properties of swine enteroviruses were established in 60–70 years of the twentieth century and were set as the basis of their international classification.

Results of the study spreading enteroviruses on pig farms in Ukraine are crucial in the development of methods and means for control and prevention of swine enteroviruses disease.

As a result of the conducted researches were selected 20 isolates of swine enteroviruses. Were determined their cytopathic effect and infective activity in cell culture PK-15. Selected viruses had antigenic connections with 10–18 specific serum to the reference strains of swine enterovirus from collection of V. Romanenko. Made experiments confirmed stability of the isolates to the action of tripsin and chloroform, and also thermal stability at 56°C in the presence of 1 M MgCl₂ and resistance to environments with a pH of 3 and 10.

Поступила в редакцию 18.12.2015 г.

ВВЕДЕНИЕ

Энтеровирусы свиней (ЭВС) широко распространены и вызывают болезни, характеризующиеся значительным полиморфизмом клинических и патологоанатомических признаков.

Основным местом локализации энтеровирусов в организме как здоровых, так и больных свиней является пищеварительный канал, с которого вирусы проникают в различные органы и ткани организма, вызывая соответствующие болезни: энзоо-

тический энцефаломиелит (болезнь Тешена) свиней, энтеровирусный гастроэнтерит, энтеровирусную пневмонию, пневмоэнтериты и другие болезни [1, 2].

Основные морфологические, биологические, физико-химические и антигенные свойства энтеровирусов свиней были установлены в 60–70-х годах XX века и были положены в основу их международной классификации.

В 1971 на основе результатов изучения антигенных свойств 72 европейских,

американских и японских штаммов энтеровирусов свиней Dunne H.W., Wang T.J., Ammermann E.H. [3] распределили их на 8 серотипов (ЕВС 1–8). Данную классификацию дополнили Knowles N. et al. [4] тремя (ЕВС 9–11), а также J. Auerbach et al. [5] – двумя (ЕВС 12 и 13) новыми серотипами. На территории Украины, Российской Федерации и Молдовы в 70–80 годах прошлого века Романенко В. Ф. с соавт. [6] установили 14 новых серотипов ЭВС, референтные штаммы которых защищены авторскими свидетельствами СССР.

За последние годы нами и другими исследователями выделены изоляты энтеровирусов свиней, которые в реакции нейтрализации имеют межтипичные антигенные свойства, что затрудняет их таксономическую принадлежность [7].

Результаты изучения распространения энтеровирусов в свиноводческих хозяйствах Украины являются определяющими при разработке методов и средств борьбы и профилактики энтеровирусных болезней свиней.

Цель работы – выделение изолятов вирусов от свиней, определение их цитопатического действия (ЦПД) и инфекционной активности в культуре клеток СПЭВ, типирование в реакции нейтрализации с использованием специфических иммунных сывороток к референтным штаммам энтеровирусов свиней, а также изучение физико-химических свойств: действие на изоляты трипсина и хлороформа, термостабильность при температуре 56°C в присутствии 1М $MgCl_2$ и устойчивость к средам со значением pH 3 и 10.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для лабораторных исследований проводили отбор ректальных смывов и проб мозга от больных, контактных и клинически здоровых свиней в хозяйствах Украины. Образцы отобранных материалов помещали в пробирки, содержащие

транспортную среду (физиологический раствор с добавлением антибиотиков). Обработку отобранных проб материалов осуществляли по методу Bogel и Mayer [8].

Выделение вирусов проводили в перевиваемой культуре клеток почки эмбриона свиньи (КК СПЭВ) в трех последовательных пассажах. Инфекционные титры определяли по методу Кербера в модификации Ашмарина [9].

Для серотипирования использовали специфические иммунные сыворотки к референтным штаммам энтеровирусов свиней коллекции академика НААН Романенко В. Ф., полученные согласно разработанной нами схеме иммунизации [10].

Чувствительность к трипсину и хлороформу проверяли по методу H. D. Matheka и A. Mayr [11]. Термостабильность изолятов энтеровирусов свиней с катионами Mg^{2+} проверяли по методу J. Melnick и C. Wallis (1961) [12] с помощью прогревания проб на водяной бане в течение 1 часа при температуре 56°C в присутствии и без 1М $MgCl_2$. Устойчивость вирусов при разных значениях pH среды определяли по методу Mayr A. et al. (1962).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

С целью изучения циркуляции энтеровирусов свиней в хозяйствах разных областей Украины с последующим определением их типовой принадлежности проведено выделение изолятов вирусов из отобранных проб ректальных смывов и проб мозга. Материалы отбирали от клинически больных свиней, животных, находящихся в непосредственном контакте с больными, а также клинически здоровых свиней в неблагополучных и благополучных по энтеровирусным болезням свиней хозяйствах. Исследование проб материалов проводили в КК СПЭВ в трех последовательных пассажах методом крайних разведений. Результаты опытов приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Цитопатическое действие изолятов вирусов в КК СПЭВ

№ п/п	Номер изолята	Пассаж проявления ЦПД	Срок проявления ЦПД, часы					
			24	48	72	96	120	144
1	1П	II	-	-	+	++	#	
2	2П	II	-	-	-	+	++	#
3	3П	III	-	+	++	#		
4	4П	II	-	-	+	++	#	
5	5П	III	-	+	++	#		
6	6П	III	-	++	#			
7	7П	II	-	-	-	+	++	#
8	8П	II	-	-	-	++	#	
9	9П	III	-	++	+++	#		
10	10П	III	-	+	++	#		
11	11П	III	+	++	+++	#		
12	12П	II	+	++	#			
13	13П	III	+	++	+++	#		
14	14П	II	++	+++	#			
15	15П	III	+	++	+++	#		
16	16П	II	-	+	++	+++	#	
17	17П	II	+	++	+++	#		
18	18П	III	++	+++	#			
19	19П	II	-	+	++	+++	#	
20	20П	III	+	++	+++	#		

Примечание – + (25%) – деструкция отдельных клеток культуры; ++ (50%) – деструкция половины клеток культуры; +++ (75%) – деструкция большинства клеток культуры, образование пустот в моношаре, вследствие отрывания клеток от стекла; # (100%) – деструкция всех клеток культуры, на стекле остаются единичные измененные округлые клетки

В результате изучения выделенных изолятов вирусов установлено, что ЦПД вирусов в культуре клеток СПЭВ начинало проявляться в основном через 24 – 48 часов, а через 96 – 144 часа проявление ЦПД оценивалось в четыре креста (#) и характеризовалось следующими изменениями: округление клеток, дегенерация монослоя и его отслоение от стекла. При этом ЦПД проявлялось во втором и треть-

ем последовательном пассаже.

Инфекционную активность 20 выделенных изолятов вирусов определяли в культуре клеток СПЭВ. При этом параллельно исследовали их типовую принадлежность в реакции нейтрализации с референтной сывороткой к штамму 1-го серотипа энтеровирусов свиней «Березнянский-652». Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты определения в КК СПЭВ инфекционной активности и типовой принадлежности выделенных изолятов вирусов со специфической сывороткой к референтному штамму 1-го серотипа энтеровирусов свиней «Березнянский - 652»

№ изолята	Инфекционный титр изолятов с нормальной сывороткой, $lg TCD_{50}/0,1 \text{ см}^3$	Инфекционный титр изолятов со специфической сывороткой, $lg TCD_{50}/0,1 \text{ см}^3$	Индекс нейтрализации (ИН)	Результат (серотип)
1	2	3	4	5
1П	4,75±0,14*	2,0±0,14*	2,75	I
2П	4,42±0,08*	1,42±0,08*	3,0	I
3П	5,08±0,08*	2,08±0,14*	3,0	I
4П	4,92±0,08*	1,92±0,08*	3,0	I
5П	3,5±0,14*	0,75±0,14*	2,75	I
6П	5,08±0,08*	2,33±0,08*	2,75	I
7П	5,0±0,14*	2,25±0,14*	2,75	I
8П	4,58±0,08*	1,58±0,08*	3,0	I
9П	4,08±0,08*	1,08±0,08*	3,0	I
10П	3,83±0,08*	0,83±0,17*	3,0	I
11П	4,17±0,17*	4,17±0,17*	2,84	I
12П	3,83±0,08*	3,83±0,08*	3,0	I
13П	4,0±0,14*	4,0±0,14*	2,75	I
14П	4,17±0,08*	4,17±0,08*	2,75	I
15П	3,92±0,08*	3,92±0,08*	2,75	I
16П	3,83±0,08*	1,0±0,14*	2,83	I
17П	3,33±0,17*	0,83±0,08*	2,5	I
18П	4,67±0,08*	2,17±0,17*	2,5	I
19П	3,75±0,14**	3,08±0,08**	0,67	-
20П	4,5±0,14**	3,75±0,14**	0,75	-

Примечание – (n=3, M±m); * P< 0,001; **P<0,05

Согласно результатам исследований, из 20 изолятов вирусов 18 имели антигенное родство с первым серотипом энтеровирусов свиней.

Для определения антигенного родства с другими серотипами энтеровирусов свиней проведена перекрестная реакция нейтрализации со специфическими сыворотками к референтным штаммам еще 20 серотипов энтеровирусов свиней коллек-

ции Романенко В. Ф. Результаты данных исследований представлены в таблице 3.

Полученные результаты свидетельствуют, что среди свиноголовья Украины циркулируют полиантигенные штаммы энтеровирусов свиней, имеющих антигенные связи с 10–18 серотипами энтеровирусов свиней, включая первый серотип, патогенные штаммы которого вызывают болезнь Тешена свиней.

Таблица 3 – Результаты определения антигенного родства изолятов вирусов в реакции перекрестной нейтрализации в КК СПЭВ

№ п/п	№ изо- ля- та	Специфические сыворотки к референтным штаммам энтеровирусов свиней																					Коли- чест- во серо- типов
		2 се- ро- тип	3 се- ро- тип	4 се- ро- тип	5 се- ро- тип	6 се- ро- тип	8 се- ро- тип	10 се- ро- тип	11 се- ро- тип	12 се- ро- тип	13 се- ро- тип	14 се- ро- тип	15 се- ро- тип	16 се- ро- тип	17 се- ро- тип	18 се- ро- тип	19 се- ро- тип	20 се- ро- тип	21 се- ро- тип	22 се- ро- тип	23 се- ро- тип		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
1	1П	+		+	+			+	+				+			+		+	+			9	
2	2П		+	+		+		+		+		+		+	+		+	+		+		11	
3	3П	+		+	+			+	+	+	+		+	+		+	+	+		+	+	14	
4	4П	+	+	+		+		+	+		+	+	+		+	+	+	+	+		+	15	
5	5П		+		+		+		+		+		+	+	+		+		+	+		11	
6	6П	+	+		+	+		+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	17	
7	7П		+	+		+	+	+	+		+		+	+		+	+	+		+	+	14	
8	8П	+		+	+	+		+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	+	+	16	
9	9П		+				+			+	+		+	+			+	+	+		+	10	
10	10П	+	+	+		+		+	+	+		+		+	+		+		+	+		13	
11	11П	+		+	+	+		+	+		+		+			+		+			+	11	
12	12П	+	+		+		+		+		+		+	+		+	+	+	+		+	13	
13	13П	+		+		+		+	+	+	+		+	+	+	+		+	+	+	+	15	
14	14П	+	+		+			+	+		+	+	+	+	+		+	+	+	+		14	
15	15П	+		+		+			+		+	+		+		+		+		+		10	
16	16П		+	+	+		+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	17	
17	17П	+						+	+		+	+			+		+		+		+	9	
18	18П		+	+		+	+		+	+		+	+	+		+		+		+		12	
19	19П	+		+	+	+		+	+	+	+		+	+	+		+		+		+	14	
20	20П	+	+		+	+		+	+		+	+		+	+	+		+	+	+	+	15	

С целью определения родовой и видовой принадлежности выделенных изолятов энтеровирусов изучены их физико-химические свойства: чувствительность к действию хлороформа и трипсина, терморезистентность при температуре 56° С в

течение часа без и в присутствии 1 М MgCl₂, а также устойчивость к средам со значениями pH 3,0 и 10,0. Результаты данных исследований приведены в таблицах 4 – 7.

Таблица 4 – Действие трипсина на выделенные изоляты вирусов свиней

№ п/п	Номер изолята	Инфекционная активность изолятов в КК СПЭВ, $lg TЦД_{50}/0,1cm^3$		
		без действия трипсина	после действия трипсина	разница титров
1	2	3	4	5
1	1П	4,75±0,14**	4,16±0,08**	0,59
2	2П	4,42±0,08**	4,08±0,08**	0,34
3	3П	5,08±0,08*	4,33±0,08*	0,75
4	4П	4,92±0,08**	4,42±0,08**	0,5
5	5П	3,5±0,14**	2,92±0,08**	0,58
6	6П	5,08±0,08**	4,67±0,08**	0,41
7	7П	5,0±0,14**	4,42±0,08**	0,58
8	8П	4,58±0,08**	4,17±0,08**	0,41
9	9П	4,08±0,08**	3,67±0,08**	0,41
10	10П	3,92±0,08**	3,58±0,08**	0,34
11	11П	4,17±0,17**	3,5±0,14**	0,67
12	12П	3,83±0,08**	3,42±0,08**	0,41
13	13П	4,0±0,14**	3,42±0,08**	0,58
14	14П	4,17±0,08**	3,58±0,17**	0,59
15	15П	3,92±0,08**	3,42±0,08**	0,5
16	16П	3,83±0,08**	3,33±0,08**	0,5
17	17П	3,25±0,14**	2,67±0,08**	0,58
18	18П	4,67±0,08*	4,33±0,08**	0,34
19	19П	3,75±0,14**	3,17±0,08**	0,58
20	20П	4,42±0,08*	3,67±0,08*	0,75

Примечание – (n=3, M±m); * P< 0,001; **P<0,05

В результате проведенных исследований установлено, что инфекционная активность изолятов после воздействия на них 0,25% раствора трипсина существенно не изменилась. При этом инфекционный титр изолятов по сравнению с контрольной группой снизился на 0,34–0,75 lg TЦД₅₀/0,1см³.

Действие протеолитического фер-

мента существенно не повлияло на инфекционную активность изолятов, что свидетельствует об отсутствии у выделенных вирусов внешней липопротеиновой оболочки.

Результаты определения действия хлороформа на изоляты представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Действие хлороформа на выделенные изоляты вирусов свиней

№ п/п	Номер изолята	Инфекционная активность изолятов в КК СПЭВ, lg ТЦД ₅₀ /0,1см ³		
		без действия хлороформа	после действия хлороформа	разница титров
1	2	3	4	5
1	1П	4,83±0,08*	4,08±0,08*	0,75
2	2П	4,5±0,14**	3,92±0,08**	0,58
3	3П	5,08±0,08*	4,33±0,08*	0,75
4	4П	4,92±0,08**	4,33±0,08**	0,59
5	5П	3,58±0,08**	3,17±0,08**	0,41
6	6П	5,08±0,08**	4,58±0,08**	0,5
7	7П	4,92±0,08**	4,33±0,17**	0,59
8	8П	4,5±0,14**	3,83±0,08**	0,67
9	9П	4,08±0,08*	3,33±0,08*	0,75
10	10П	3,92±0,08**	3,25±0,14**	0,67
11	11П	4,17±0,08**	3,83±0,08**	0,34
12	12П	3,83±0,08**	3,33±0,08**	0,5
13	13П	3,92±0,08**	3,42±0,08**	0,5
14	14П	4,33±0,08**	3,5±0,14**	0,83
15	15П	4,0±0,14**	3,33±0,08**	0,67
16	16П	3,83±0,08*	3,08±0,08*	0,75
17	17П	3,33±0,08**	2,92±0,08**	0,41
18	18П	4,67±0,08*	4,17±0,08**	0,5
19	19П	3,83±0,08**	3,25±0,14**	0,58
20	20П	4,58±0,08**	4,08±0,08**	0,5

Примечание – (n=3, M±m); *P<0,001; **P<0,05

Согласно полученным результатам, все исследованные изоляты вирусов свиней, которые были обработаны хлороформом, по своей инфекционной активности в культуре клеток СПЭВ отличались от данных показателей контрольных материалов на 0,34 – 0,83 lg ТЦД₅₀/0,1см³, что свидетельствует об их устойчивости к хлороформу.

Вирусные материалы после обработки хлороформом использованы нами при получении антигенов для иммунизации кроликов, так как они не содержат ДНК-вирусов, бактерий, микоплазм.

Результаты изучения терморезистентности исследуемых изолятов при температуре 56° С в присутствии и без 1M MgCl₂ представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Терморезистентность выделенных изолятов вирусов свиней при их нагреве в течение 1 часа при температуре 56°C

№ п/п	Номер изолята	Инфекционная активность изолятов в КК СПЭВ, lg ТЦД ₅₀ /0,1 см ³		
		непрогретого (контрольного)	прогретого без 1 М MgCl ₂	прогретого в присутствии 1 М MgCl ₂
1	2	3	4	5
1	1П	4,75±0,14	3,08±0,08*	4,17±0,08*
2	2П	4,42±0,08	3,33±0,08*	4,08±0,08*
3	3П	5,08±0,08	3,42±0,08*	4,67±0,08*
4	4П	4,92±0,08	3,75±0,14**	4,42±0,08**
5	5П	3,5±0,14	2,33±0,08**	2,92±0,08**
6	6П	5,08±0,08	3,33±0,08*	4,67±0,08*
7	7П	5,0±0,14	3,58±0,08*	4,42±0,08*
8	8П	4,58±0,08	3,33±0,08*	4,07±0,08*
9	9П	4,08±0,08	2,42±0,08*	3,5±0,14*
10	10П	3,83±0,08	2,75±0,14**	3,42±0,08**
11	11П	4,17±0,17	2,92±0,08**	3,58±0,08**
12	12П	3,83±0,08	2,58±0,08**	3,25±0,14**
13	13П	4,0±0,14	2,42±0,08*	3,33±0,17**
14	14П	4,17±0,08	3,08±0,08*	3,83±0,08*
15	15П	3,92±0,08	2,83±0,08*	3,58±0,08*
16	16П	3,83±0,08	2,83±0,08**	3,42±0,08**
17	17П	3,33±0,17	2,17±0,08**	2,67±0,08**
18	18П	4,67±0,08	3,25±0,14*	4,33±0,08*
19	19П	3,83±0,08	2,67±0,08*	3,42±0,08*
20	20П	4,5±0,14	3,42±0,08**	3,83±0,17**

Примечание – (n=3, M±m); *P<0,001; **P<0,05

В прогретых при температуре 56°C в течение часа изолятах энтеровирусов свиней без 1М MgCl₂ разница с контролем была в пределах 1–1,75 lg ТЦД₅₀/0,1 см³, в среднем, 1,25 lg ТЦД₅₀/0,1 см³.

В изолятах, прогретых в течение часа при температуре 56°C в присутствии 1М MgCl₂, инфекционная активность существенно не изменилась, то есть снизилась на 0,34 – 0,67 lg ТЦД₅₀/0,1 см³, в сред-

нем, на 0,49 lg ТЦД₅₀/0,1 см³.

Таким образом, все исследованные изоляты вирусов свиней терморезистентны при их нагревании в течение часа при температуре 56° С в присутствии 1М MgCl₂, что свидетельствует о стабилизации вирионов катионами Mg²⁺.

Устойчивость изолятов к средам со значением рН 3 и 10 представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Влияние сред со значениями pH 3,0 и 10,0 на выделенные изоляты вирусов свиней

№ п/п	Номер изолята	Инфекционная активность изолятов в КК СПЭВ, lg ТЦД ₅₀ /0,1см ³		
		контроль	pH 3,0	pH 10,0
1	2	3	4	5
1	1П	4,83±0,08*	4,08±0,08*	4,25±0,14**
2	2П	4,42±0,08**	4,08±0,08**	3,92±0,08**
3	3П	5,08±0,08*	4,33±0,08*	4,58±0,08**
4	4П	4,92±0,08**	4,58±0,08**	4,42±0,08**
5	5П	3,5±0,14**	2,92±0,08**	2,92±0,08**
6	6П	5,08±0,08**	4,67±0,08**	4,58±0,08**
7	7П	5,0±0,14**	4,33±0,08**	4,42±0,08**
8	8П	4,58±0,08**	4,17±0,08**	4,08±0,08**
9	9П	4,08±0,08**	3,5±0,14**	3,67±0,08**
10	10П	3,92±0,08**	3,58±0,08**	3,33±0,08**
11	11П	4,17±0,17**	3,58±0,08**	3,5±0,14**
12	12П	3,83±0,08**	3,42±0,08**	3,33±0,08**
13	13П	4,0±0,14**	3,42±0,08**	3,42±0,08**
14	14П	4,17±0,08**	3,58±0,17**	3,67±0,08**
15	15П	3,92±0,08**	3,58±0,08**	3,42±0,08**
16	16П	3,83±0,08**	3,33±0,08**	3,58±0,17**
17	17П	3,25±0,14**	2,67±0,08**	2,67±0,08**
18	18П	4,67±0,08**	4,33±0,08**	4,17±0,08**
19	19П	3,75±0,14**	3,08±0,08**	3,17±0,08**
20	20П	4,42±0,08**	3,83±0,08**	3,92±0,08**

Примечание – (n=3, M±m); *P< 0,001; **P<0,05

Согласно полученным результатам, после воздействия на изоляты вирусов сред со значениями pH 3,0 и 10,0 отмечали незначительное снижение их титров по сравнению с контрольными пробами, ко-

торое было в пределах 0,34-0,75 lg ТЦД₅₀/0,1см³, что свидетельствует об устойчивости выделенных изолятов к данным значениям pH.

ВЫВОДЫ

1 В результате проведенных нами исследований выделено 20 изолятов энтеровирусов от свиней; определены их цитопатическое действие и инфекционная активность в культуре клеток СПЭВ. При типировании в реакции нейтрализации с использованием специфических иммунных сывороток к референтным штаммам энтеровирусов свиней установлено, что данные изоляты имели антигенное родство с 10–18 серотипами энтеровирусов свиней, включая первый серотип, патогенные штаммы которого вызывают болезнь Тешена свиней.

2 При изучении физико-химических свойств изолятов установлена их устойчивость к действию трипсина и хлороформа, термостабильность при температуре 56°C в присутствии 1М MgCl₂ и устойчивость к средам со значением pH 3 и 10.

3 Полученные результаты являются основанием для более детального изучения молекулярно-генетических свойств выделенных энтеровирусов с использованием ПЦР, а также секвенирования и филогенетического анализа продуктов амплификации.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Романенко, В.Ф. Энзоотический энцефаломиелит свиней (болезнь Тешена) / В.Ф. Романенко // *Ветеринария*. – 1974. № 2. – С. 61–62.
- 2 Романенко, В.П. Епізоотологія ентеровірусних хвороб свиней / В.П. Романенко, В.П. Онасенко // *Вісник с/г науки*. – 1975. – №3. – С. 92–94.
- 3 Dunne, H.W. Classification of North American porcine Enteroviruses: a comparison with European and Japanese strains / H.W. Dunne, T.J. Wang, E.H. Ammermann // *Infect. Immunol.* – 1971. – Vol. 4, № 5. – P. 619–631.
- 4 Knowless, N.J. Classification of porcine enteroviruses by antigenic analysis and cytopathic effects in tissue culture: description of 3 new serotypes / N.J. Knowless, L.S. Buckley, H.G. Pereira // *Arch. Virol.* – 1979. – Vol. 62, 3. – P. 201–208.
- 5 Grouping of porcine enteroviruses by indirect immunofluorescence and description of two new serotypes / J. Auerbach, D. Prager, S. Neuhaus [et al.] // *J. Vet. Med. Ser.* – 1994. – Vol. 41, № 4. – P. 277–282.
- 6 Романенко, В.Ф. Классификация энтеровирусов свиней / В.Ф. Романенко, О.Г. Прусс, Н.В. Бабич [и др.] // *Вісник аграрної науки*. – 1993. – № 1. – С. 94–101.
- 7 Романенко, В.П. Деякі біологічні особливості поліантигенних штамів ентеровірусів свиней / В.П. Романенко, С.В. Дерев'янка // *Наук. вісник нац. аграрн. ун-ту*. – 2001. – №36. – С.80–83.
- 8 Bögel, K. Untersuchungen über die Chloroformresistenz der Enteroviren des Rindes und des Schweines / K. Bögel, A. Mayr // *Zentralblatt für Veterinärmedizin*. – 1961. – Vol. 8, I. 9. – P. 908–922.
- 9 Сюрин, В. Н. Методы лабораторной диагностики вирусных болезней животных / В. Н. Сюрин [и др.] – Москва: Агропромиздат, 1986. – 349 с.
- 10 Романенко, В. П. Одержання специфічних сироваток кролів на референтні штами ентеровірусів свиней / В. П. Романенко, Л. М. Музикіна, В. І. Божок, Ю. І. Пуцик // 2012. – № 20. – С. 107–110.
- 11 Matheka, H. D. Der stabilisierende und reaktivierende Einfluss von Trypsin auf das Virus der Teschener Krankheit (Schweinelahmung) und die Inaktivierung von Maul-und-Klauenseuche (MKS) Virus durch dieses Enzym / H. D. Matheka, A. Mayr // *Arch. ges. Virusforsch.* – 1962. – V. 12. – N 4. – P. 463–471.
- 12 Melnick, J. Cationic stabilization – A new property of enteroviruses / J. Melnick, C. Wallis // *Virology*. – 1961. – V. 14. – P. 74–82.

УДК:619:615.28

Василькова В.П., кандидат ветеринарных наук
Якубовский М.В., доктор ветеринарных наук, профессор

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

ВЛИЯНИЕ ПАРАЗИТОВ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА НА ОРГАНИЗМ ТЕЛЯТ

Резюме

В статье представлены результаты исследований патогенеза телят, инвазированных ассоциацией паразитов желудочно-кишечного тракта, основными из которых являются: снижение уровня розеткообразующих Т- и В-лимфоцитов, увеличение α_1 - и α_2 -глобулинов, снижение β - и γ -глобулинов, повышение активности аспаратаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы. Все это в комплексе указывает на высокий уровень иммунодефицита в организме телят.

Summary

The article presents the results of studies of the pathogenesis of calves, infested by the Association of parasites of the gastro-intestinal tract, the main ones are: low rosette of T- and b-lymphocytes, the increase of IgM concentration with the decline in IgG and IgA, increased α_1 - and α_2 -globulins, decreased β - and γ -globulins, increased activity of AST, ALT. All this indicates a high level of immune deficiency in the organism of calves.

Поступила в редакцию 02.03.2016 г.

ВВЕДЕНИЕ

Желудочно-кишечный тракт функционально связан со всеми основными системами организма животного. Более 60% всей иммунной системы организма локализуется в желудочно-кишечном тракте. Желудочно-кишечный тракт выполняет очень важную метаболическую функцию, отвечая за переваривание и всасывание питательных веществ, обезвреживание токсинов, метаболизм гормонов и витаминов, воспроизводство энергии и т.д. [2]. Паразитирование гельминтов, паразитических простейших в желудочно-кишечном тракте приводит к глубоким нарушениям обменных процессов, а также угнетению активности клеточных и гуморальных факторов защиты организма. Снижение роста и развития, потеря массы тела животного – одни из первых признаков заражения телят паразитами. Однако заражение животных паразитами желудочно-кишечного тракта может даже протекать бессимптомно и проявляться с более острыми клиническими изменениями на фоне снижения иммунитета [1, 3, 4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для изучения иммунобиологических показателей телят при заражении их паразитами желудочно-кишечного тракта проводили гематологические, иммунологические и биохимические исследования.

При этом определяли количество эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина на гематологическом анализаторе Medonic SA-620. Также определяли процентное соотношение между отдельными видами лейкоцитов. Для этого готовили мазки крови и после фиксации их этанолом окрашивали по Романовскому-Гимза.

Определение Т- и В-лимфоцитов проводили по методике Д.К. Новикова и В.И. Новиковой в модификации А.Ф. Могиленко (1996).

Определение циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови проводили по методу Ю.А. Гриневич и А.Н. Алферова (1981).

Соотношение белковых фракций определяли с помощью диагностического набора «CORMAY GEL PROTEIN 100».

Биохимическое исследование сыворотки крови проводили на биохимическом анализаторе Dialab Autolyser.

С целью изучения патогенеза при ассоциативных паразитозах желудочно-кишечного тракта использовали телят в возрасте 3–3,5 месяцев, спонтанно инвазированных ассоциацией паразитов желудочно-кишечного тракта, и интактных животных аналогичного возраста, принадлежавших СК «Трайп-Агро» Логойского района. Из них сформировали 2 группы телят.

Телята первой группы (6 голов) инвазированы ассоциацией паразитов желудочно-кишечного тракта, телята второй группы (6 голов) – свободные от паразитов желудочно-кишечного тракта.

Кровь для исследования отбирали от каждого теленка двух групп на 1, 7, 14, 26 и 61 день исследований. Параллельно проводили отбор и исследования проб фекалий телят методами Котельникова Г.А. – Хренова В.М. (1974) – для обнаружения яиц гельминтов и ооцист эймерий; Петрова А.М. и Гагарина В.Г. (1953) – культивирование личинок, для последующего определения родового состава трихост-

ронгирид, Бермана-Орлова (1984) – для выделения личинок из проб фекалий; Манжоса А.Ф. (1982) – для определения количества балантидий в 1 мл фекалий. Весь полученный цифровой материал обработан с помощью программ статистического анализа Excel и с учетом рекомендаций Рокицкого П.Ф. (1973).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

После проведенных паразитологических исследований было установлено, что все телята первой группы (опытной) инвазированы ассоциацией, состоящей из стронгилоид и эймерий. Телята второй группы (контроль) были интактными.

Паразитирование у телят стронгилоид и эймерий вызывает достоверное снижение количества эритроцитов в крови на протяжении всего периода наблюдений (таблица 1). Максимально низкий показатель был отмечен в последний день эксперимента. Количество эритроцитов в группе инвазированных телят в этот день составило $4,15 \pm 0,27 \cdot 10^{12}/л$, что в 1,24 раза ($P < 0,01$) ниже по сравнению с показателями интактных животных.

Таблица 1 – Динамика содержания эритроцитов в крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, $10^{12}/л$

Дни исследований	Группы телят	
	инвазированные	свободные от паразитов
1	$4,45 \pm 0,20^{**}$	$5,45 \pm 0,16$
7	$4,65 \pm 0,25^{**}$	$5,72 \pm 0,20$
14	$4,30 \pm 0,28^{**}$	$5,56 \pm 0,16$
26	$4,27 \pm 0,19^{**}$	$5,37 \pm 0,24$
61	$4,15 \pm 0,27^{**}$	$5,16 \pm 0,14$

Примечание – $^{**}P < 0,01$

В восстановительных процессах организма значимую роль играет гемоглобин, он также обладает способностью связывать токсичные вещества.

Содержание гемоглобина при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта телят представлено в таблице 2.

Уровень гемоглобина на 14 день исследований был в 1,30 раз ($P < 0,01$) ниже показателей интактных телят.

Лейкоциты являются наиболее «подвижной» частью крови, быстро реагирующей развитием лейкоцитоза на различные изменения в организме.

Таблица 2 – Динамика количества гемоглобина в крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, г/л

Дни исследований	Группы телят	
	инвазированные	свободные от паразитов
1	85,59 ± 4,31 *	98,39 ± 2,51
7	81,26 ± 6,74	96,05 ± 5,60
14	77,38 ± 4,66 **	101,14 ± 3,71
26	87,01 ± 6,30 *	105,64 ± 3,02
61	81,98 ± 6,84 *	103,49 ± 4,25

Примечание – *P < 0,05; **P < 0,01

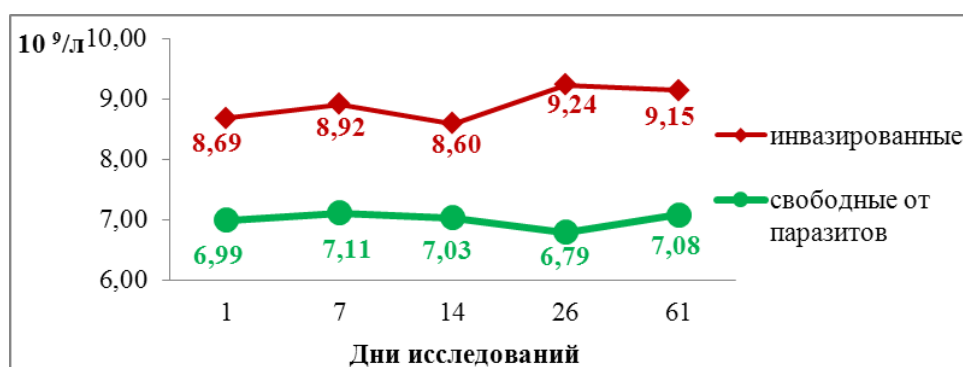


Рисунок 1 – Динамика содержания лейкоцитов в крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, 10⁹/л

Из полученных данных, которые отражены на рисунке 1, видно, что у инвазированных животных наблюдалось повышенное количество лейкоцитов по сравнению с интактными телятами. На 26-й день эксперимента уровень лейкоцитов опытной группы составил $9,24 \pm 0,14 \times 10^9/\text{л}$, что в 1,36 раза ($P < 0,001$) выше аналогичных показателей телят группы контроля.

Анализ лейкограммы является одним из главных этапов иммунобиологического исследования, в частности, интерес представляет уровень эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов у инвазированных и свободных от паразитов желудочно-кишечного тракта животных.

Эозинофилы играют важную роль в противопаразитарном иммунитете. При помощи белков-перфоринов эозинофилы повреждают оболочку паразита и проникают внутрь их.

Главная функция нейтрофилов – фагоцитоз, то есть поглощение и растворение чужеродных частиц и клеток.

Лимфоциты участвуют в защите от вирусных, бактериальных и паразитарных болезней.

Результаты по изучению влияния паразитов желудочно-кишечного тракта на уровень эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов и лимфоцитов у телят приведены на рисунке 2 и в таблицах 3 и 4.

По полученным данным, которые отображены на рисунке 2, видно, что на протяжении всего периода исследований количество эозинофилов находилось на достоверно высоком уровне по сравнению с аналогичными показателями свободных от паразитов желудочно-кишечного тракта телят, что связано с сенсibilизацией организма продуктами жизнедеятельности паразитов. Максимальное количество ($8,50 \pm 1,28$ %) эозинофилов за весь период исследований наблюдалось в первый день опыта, что выше в 2,36 раза ($P < 0,01$) аналогичных показателей телят группы контроля.

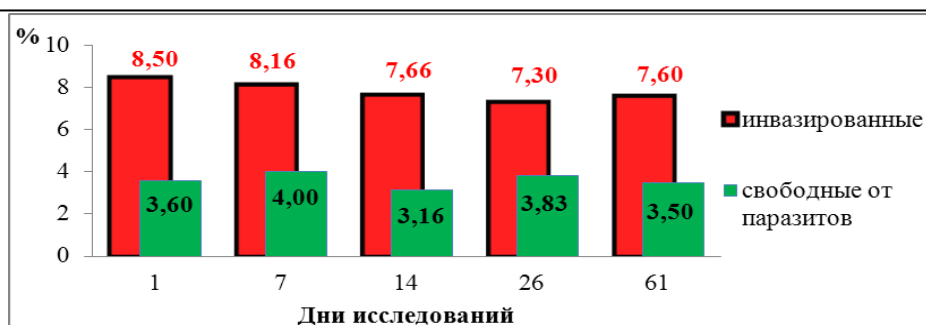


Рисунок 2 – Динамика содержания эозинофилов в крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, %

Таблица 3 – Динамика количества палочкоядерных нейтрофилов в крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, %

Дни исследований	Группы телят	
	инвазированные	свободные от паразитов
1	10,16 ± 1,42	8,50 ± 1,23
7	10,83 ± 1,24	8,0 ± 0,81
14	12,66 ± 0,88 **	7,66 ± 1,05
26	10,83 ± 1,35	8,50 ± 1,17
61	10,33 ± 1,49	8,16 ± 1,44

Примечание – **P < 0,01

В здоровом состоянии защиту иммунитета обеспечивают зрелые – сегментоядерные нейтрофилы и совсем немного молодых, то есть палочкоядерных нейтрофилов. И чем активнее антигенная атака, тем больше проявляется нагрузка на иммунитет и тем больше в крови появляется палочкоядерных нейтрофилов. На 14-й

день исследований наблюдалось повышение в 1,65 раза (P < 0,01) количества молодых форм нейтрофилов по отношению к группе свободных от паразитов желудочно-кишечного тракта телят. Полученные данные свидетельствуют о развитии в организме телят опытной группы воспалительных реакций, вызванных инвазией.

Таблица 4 – Динамика количества лимфоцитов в крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, %

Дни исследований	Группы телят	
	инвазированные	свободные от паразитов
1	58,50 ± 2,09	65,50 ± 3,06
7	57,66 ± 2,57	66,33 ± 2,95
14	57,33 ± 3,44	60,50 ± 3,19
26	61,33 ± 2,40	63,16 ± 2,80
61	58,5 ± 2,40 *	67,83 ± 2,67

Примечание – * P < 0,05

Лимфоциты – главные клетки иммунной системы, отвечающие за выявление инородных клеток и микроорганизмов. Пониженное содержание лимфоцитов в крови инвазированных телят (таблица 4) на протяжении всего периода нашего исследования связано с протекающими воспалительными процессами, вызванными жизне-

деятельностью паразитов.

Достоверное снижение лимфоцитов произошло на 61-й день наблюдений и составило 58,50 ± 2,40 %, что на 13,75 % (P < 0,05) ниже аналогичных показателей, полученных от группы контроля. Лимфопения, при одновременном увеличении уровня нейтрофилов, говорит о снижении есте-

ственной резистентности организма телят.

Лимфоциты являются главными иммунными клетками. Высокая значимость лимфоцитов обусловлена выработкой антител при попадании в организм чужеродных веществ. Сложенное взаимодействие двух популяций лимфоцитов запускает гуморальный и клеточный иммунитет.

Одна популяция – Т-лимфоциты – ответственна за формирование активиро-

Таблица 5 – Динамика количества Т-лимфоцитов в крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, %

Дни исследований	Группы телят	
	инвазированные	свободные от паразитов
1	22,16 ± 2,08 *	33,33 ± 3,42
7	21,16 ± 1,57 ***	38,33 ± 2,02
14	20,50 ± 1,97 ***	39,66 ± 1,02
26	17,83 ± 1,83 ***	37,83 ± 2,27
61	18,50 ± 1,68 ***	41,0 ± 1,69

Примечание – *P<0,05; ***P<0,001

Т-лимфоциты разрушают чужеродные клетки при непосредственном контакте с данными клеточными формами. Распознавание чужеродных клеток осуществляется антигенраспознающими Т-клеточными рецепторами, образующимися на поверхности Т-лимфоцитов.

На протяжении всего периода исследований количество Т-лимфоцитов находилось на достоверно низком уровне (таблица 5), в сравнении с аналогичными

ванных лимфоцитов, обеспечивающих клеточно-опосредованный иммунитет. Другая популяция – В-лимфоциты – ответственна за формирование антител, обеспечивающих гуморальный иммунитет.

Изменения в содержании количества Т- и В-лимфоцитов в крови животных, инвазированных паразитами, отражены в таблицах 5 и 6.

показателями телят группы контроля. Минимальное количество Т-лимфоцитов было выявлено на 26 день проводимого эксперимента, что в 2,12 раза (P < 0,001) ниже показателей, свободных от паразитов желудочно-кишечного тракта телят.

Одной из основных особенностей В-лимфоцитов является наличие поверхностного иммуноглобулина, способного к специфическому распознаванию чужеродного антигена.

Таблица 6 – Динамика количества В-лимфоцитов в крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, %

Дни исследований	Группы телят	
	инвазированные	свободные от паразитов
1	11,33 ± 1,64**	21,30 ± 1,94
7	12,0 ± 1,93**	22,0 ± 1,39
14	11,33 ± 1,05***	22,50 ± 0,92
26	10,66 ± 0,91***	23,83 ± 0,98
61	9,50 ± 1,25***	23,33 ± 0,49

Примечание – **P < 0,01; ***P < 0,001

Уровень В-лимфоцитов (таблица 6) в начале проводимого исследования находился на достоверно низком уровне в сравнении с показателями телят группы контроля. Такая тенденция прослежива-

лась до конца проводимого исследования. Минимальное снижение уровня В-лимфоцитов (в 2,45 раза (P<0,001)) по отношению к показателям интактных животных наблюдалось к концу проводимого эксперимента.

Гуморальные факторы защиты животных представляют собой различные белки, растворимые в крови и жидкостях организма.

Белки являются структурной и функциональной основой жизнедеятельности всего живого, они обеспечивают рост, развитие и нормальное протекание обменных процессов в организме. Для оценки иммунного статуса наиболее ценными являются количественные и качественные изменения белков в сыворотке крови.

Общий белок (органический полимер, состоящий из аминокислот) – важный компонент белкового обмена в организме. Под понятием «общий белок» понимают общую концентрацию **альбумина** и **глобулинов** в сыворотке крови. Белок выполняет транспортную функцию и участвует в иммунных реакциях. Динамика количества белка при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта телят представлена на рисунке 3.



Рисунок 3 – Динамика содержания общего белка в сыворотке крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, %

К концу проводимого исследования содержание общего белка в сыворотке крови инвазированных телят составило 56,10 %, что на 23,76 % ($P < 0,01$) ниже показателей интактных телят. Полученные данные говорят о том, что паразиты желудочно-кишечного тракта вызывают нарушение белкового обмена, что, в свою очередь, приводит к снижению иммунореактивности.

Статистически достоверных изменений в содержании альбумина за период исследований выявлено не было. Фракция α_1 -глобулинов включает в себя острофазные белки: α_1 -антитрипсин (основной компонент этой фракции) – ингибитор многих протеолитических ферментов – трипсина, химотрипсина, плазмина и т.д., а также α_1 -кислый гликопротеин (орозомукоид). Основной компонент фракции α_2 -макроглобулин участвует в развитии инфекционных и воспалительных реакций. У инвазированных телят наблюдалось повышение концентрации фракций α_1 -глобулинов на 7-й день и α_2 -глобулинов – на 61 день исследований, что в 1,67 раза ($P < 0,05$) и в 1,72

раза ($P < 0,01$) соответственно выше интактных телят.

Фракция γ -глобулинов содержит компоненты комплемента и часть иммуноглобулинов. У инвазированных телят по отношению к показателям интактных животных отмечалось максимальное снижение (в 1,34 раза ($P < 0,01$)) уровня γ -глобулинов в первый день исследования.

Фракция γ -глобулинов состоит из иммуноглобулинов в порядке количественного убывания – IgG, IgA, IgM, IgE. Достоверно низкое количество γ -глобулинов было выявлено в последний день эксперимента, что в 1,30 раз ($P < 0,01$) ниже показателей группы свободных от паразитов желудочно-кишечного тракта телят.

Уровень продукции циркулирующих иммунных комплексов является важным показателем завершенности патологического процесса.

Динамика циркулирующих иммунных комплексов при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта телят отражена в таблице 8.

Таблица 7 – Динамика соотношения белковых фракций в сыворотке крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, %

Период исследований	Группы телят	
	инвазированные	свободные от паразитов
альбумин		
1	47,60 ± 1,90	48,10 ± 2,12
7	45,88 ± 3,90	46,57 ± 1,91
14	42,68 ± 5,67	48,33 ± 3,66
26	40,52 ± 2,47	41,01 ± 3,11
61	43,87 ± 1,06	45,69 ± 2,60
a ₁ – глобулины		
1	7,99 ± 0,49	6,76 ± 0,35
7	8,78 ± 1,33 *	5,25 ± 0,41
14	9,53 ± 1,60	5,81 ± 1,29
26	10,49 ± 1,98	7,80 ± 0,90
61	9,80 ± 0,93	9,69 ± 0,81
a ₂ – глобулины		
1	12,14 ± 1,63	7,93 ± 1,14
7	12,12 ± 1,90	7,88 ± 1,56
14	13,72 ± 2,44	9,65 ± 1,99
26	13,82 ± 1,39	9,85 ± 1,33
61	14,43 ± 1,31 **	8,38 ± 0,78
b – глобулины		
1	13,03 ± 1,11 **	17,59 ± 0,56
7	15,48 ± 0,62	15,45 ± 1,02
14	14,42 ± 1,37	15,74 ± 0,69
26	14,04 ± 1,29 *	17,41 ± 0,77
61	14,84 ± 1,24	16,66 ± 0,70
g – глобулины		
1	19,23 ± 1,02	19,59 ± 1,40
7	23,38 ± 1,38	24,56 ± 2,10
14	19,62 ± 4,17	20,45 ± 1,41
26	21,05 ± 1,49	23,91 ± 2,0
61	17,04 ± 0,63 **	22,29 ± 1,09

Примечание – * P < 0,05; ** P < 0,01

Таблица 8 – Динамика уровня циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, ед.опт.пл.

Дни исследований	Группы телят	
	инвазированные	свободные от паразитов
1	110,50 ± 11,93 **	63,33 ± 3,25
7	108,66 ± 14,36 *	61,66 ± 6,25
14	101,83 ± 14,74 *	64,83 ± 5,82
26	105,16 ± 10,16 **	61,16 ± 6,09
61	106,16 ± 8,20 ***	60,0 ± 3,88

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

На протяжении всего периода нашего исследования уровень ЦИК у инвазированных паразитами желудочно-кишечного

тракта телят находился на достоверно высоком уровне по отношению к интактным телятам. К концу проводимого исследова-

ния уровень ЦИК в сыворотке крови опытных телят составил $106,16 \pm 8,20$ ед.опт.пл., что в 1,76 раза ($P < 0,001$) выше аналогичных показателей в группе контроля.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что инвазированность паразитами желудочно-кишечного тракта приводит к развитию воспалительных процессов в организме телят и снижению иммунореактивности.

В ветеринарной медицине с целью изучения глубины поражения и контроля эффективности лечения паразитозов нашло практическое применение определение активности двух ферментов трансаминирования – аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ).

Известно то, что АлАТ и АсАТ рассматриваются в качестве высокодостоверных маркеров повреждения и некроза гепатоцитов.

Показатели динамики содержания аминотрансфераз в сыворотке крови телят,

при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта представлены в таблице 9.

Содержание аланинаминотрансферазы в сыворотке крови инвазированных паразитами желудочно-кишечного тракта телят на 14, 26 и 61-й день эксперимента находилось на статистически достоверном уровне в сравнении с показателями телят контрольной группы. Его количество в этот период было повышено в 1,41 раза ($P < 0,01$), в 1,50 раза ($P < 0,05$) и в 1,38 раза ($P < 0,05$) соответственно.

К концу проводимого исследования уровень аспартатаминотрансферазы у телят, инвазированных паразитами желудочно-кишечного тракта, составил $71,2 \pm 1,92$ Ед/л, что в 2,26 раза ($P < 0,001$) выше показателей телят контрольной группы. Повышение исследуемых аминотрансфераз обусловлено токсическим воздействием на печень продуктов жизнедеятельности паразитов.

Таблица 9 – Динамика содержания аминотрансфераз в сыворотке крови телят при ассоциации паразитов желудочно-кишечного тракта, Ед/л

Дни исследований	Группы телят	
	инвазированные	свободные от паразитов
аланинаминотрансфераза (АЛТ)		
1	$27,53 \pm 2,05$	$24,00 \pm 1,88$
7	$30,88 \pm 1,43$	$27,99 \pm 2,2$
14	$35,15 \pm 2,65^{**}$	$24,79 \pm 1,74$
26	$34,39 \pm 2,57^{*}$	$22,83 \pm 3,17$
61	$31,78 \pm 2,89^{*}$	$22,95 \pm 1,88$
аспартатаминотрансферазы (АСТ)		
1	$42,27 \pm 6,0^{*}$	$27,97 \pm 1,72$
7	$54,68 \pm 7,78^{*}$	$31,19 \pm 2,48$
14	$58,68 \pm 6,12^{**}$	$32,93 \pm 2,15$
26	$66,04 \pm 3,48^{***}$	$33,43 \pm 2,80$
61	$71,20 \pm 1,92^{***}$	$31,49 \pm 2,38$

Примечание – $^{*}P < 0,05$; $^{**}P < 0,01$; $^{***}P < 0,001$

Диагностически ценным является расчет коэффициента де Ритиса – АСТ/АЛТ. У интактных телят за период исследований он составил 1,13 и 1,57, что соответствует физиологической норме, однако

у инвазированных животных соотношение аминотрансфераз было повышено до уровня 2,34, что подтверждает то, что паразиты оказывают гепатотоксическое действие.

ВЫВОДЫ

1 Заражение телят ассоциацией паразитов желудочно-кишечного тракта способствует снижению количества эритроцитов, гемоглобина, лимфоцитов и увеличению количества эозинофилов и палочкоядерных нейтрофилов.

2 Инвазия паразитами желудочно-кишечного тракта в сыворотке крови телят

вызывает снижение содержания общего белка, альбумина, β - и γ -глобулинов и повышение содержания α_1 - и α_2 -глобулинов, циркулирующих иммунных комплексов.

3 Инвазирование животных паразитами желудочно-кишечного тракта приводит к увеличению активности аминотрансфераз.

ЛИТЕРАТУРА

1 Безбородкин, А.Н. Особенности отношений в системе паразит – хозяин и профилактика желудочно-кишечных нематодозов молодняка крупного рогатого скота: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.19 / А.Н. Безбородкин; РУП ИЭВ им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси. – Мн., 1990. – 22 с.

2 Заболевания желудочно-кишечного тракта: результаты последних исследований и комментарии [Электронный ресурс]. – 2011. – Режим доступа: <http://applied-kinesiology.ru/book/107>. Дата доступа: 01.03.2016.

3 Якубовский, М.В. Иммуносупрессивное влияние на организм животных некоторых паразитов и химиотерапевтических средств и эффективность иммуномодуляторов при паразитарных болезнях / М.В. Якубовский // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2001. – № 1. – С. 18 – 21.

4 Soliman, K.N. Studies on the relation sheep of tungworm infestation in cattle and their liver vitamin A reserve / K.N. Soliman // Veterinary journal. – 1953. – Vol. 109. – P. 148 – 154.

УДК 619:616.993.192.1:636.22/.28.053.2:612.017

Пахноцкая О. П., исследователь ветеринарных наук

Якубовский М. В., доктор ветеринарных наук, профессор

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

ИММУННЫЙ СТАТУС ТЕЛЯТ ПРИ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ**Резюме**

В статье представлены результаты исследований по биохимическим и иммунологическим показателям крови телят при криптоспориidioзе.

Summary

In the article are given data about the research of immunological and biochemical indicators of the blood of calves in cryptosporidiosis.

Поступила в редакцию 09.03.2016 г.

ВВЕДЕНИЕ

В условиях интенсивных технологий ведения животноводства, при содержании большого количества животных на ограниченных площадях, при нарушении гигиены кормления и содержания, при накоплении естественных загрязнителей, новорожден-

ные животные с первых дней жизни подвергаются воздействию факторов как инфекционной, так и неинфекционной природы, что приводит к снижению общей резистентности организма, развитию иммунодефицитных состояний [1]. Все это усугубляется незрелостью иммунной сис-

темы новорожденных животных, связанной с недоразвитием лимфоидных органов [2, 4].

На этом фоне особо патогенным является возбудитель типичного зооноза *Cryptosporidium parvum*, который часто диагностируется в последние годы и наносит экономический ущерб животноводству [3, 7]. Следовательно, изучение проблемы регуляции неспецифических и специфических механизмов защиты, возникающих в ответ на дестабилизирующее воздействие патогенного характера, направленных на сохранение гомеостаза и жизни организма, – одна из важнейших задач современной паразитарной иммунологии.

На территории Республики Беларусь криптоспоридии обнаружены у телят, ягнят, поросят, мышей и крыс, кроликов, цыплят и человека. При этом установлено, что инвазированность этими паразитами наиболее часто встречается у крупного рогатого скота. Так, у 18 % телят однодневного возраста обнаружены ооцисты криптоспоридий, что свидетельствует о внутриутробном заражении плода этими паразитами. У 3-хдневных телят зараженность криптоспоридиями достигает 30 %, у 7-дневных телят – 60 %, а у 2-хнедельных животных она составляет 100 %. Затем инвазированность телят снижается до 35 %, а у коров она составляет 42 % [4,6].

По данным Министерства сельского хозяйства США криптоспоридиозная инвазия обнаружена на 90 % североамериканских молочных фермах [8].

Одним из ключевых моментов в решении проблемы криптоспоридиоза может быть многостороннее, комплексное рассмотрение воздействия возбудителя и продуктов его метаболизма на организм животного.

Таким образом, **целью** нашей работы явилось исследование изменений иммунобиохимических показателей, характеризующих состояние иммунной системы телят при инвазировании криптоспоридиями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследований служили телята 9–35 дневного возраста, спонтанно зараженные криптоспоридиями и свободные от данных паразитов. На основании копроскопических исследований методом нативного мазка с окраской по Циль-Нильсену (для определения интенсивности криптоспоридиозной инвазии) были сформированы по принципу условных аналогов 2 группы животных: 1-ая опытная – телята, инвазированные криптоспоридиями, 2-ая контрольная – интактные телята.

Для изучения иммунного статуса телят при криптоспоридиозной инвазии от каждого теленка двух групп отбирали пробы крови на 1, 6, 13 и 20 день наблюдений. Параллельно проводили отбор и исследование проб фекалий, за животными вели клиническое наблюдение.

Определение в крови количества эритроцитов и лейкоцитов, уровня гемоглобина проводили с помощью гематологического анализатора Medonic CA-620. Лейкоцитарную формулу выводили на основании подсчета 100 клеток в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза согласно рекомендациям А.А. Кудрявцева и Л.А. Кудрявцевой (1974). Определение Т (Е-РОК)- и В (ЭМ)-лимфоцитов проводили по методике Д.К. Новикова, В.И. Новиковой в модификации Могиленко (1984). Для определения циркулирующих иммунных комплексов использовали метод Ю.А. Гриневич и Н.И. Алферова (1981). С помощью электрофоретической системы SEBIA определяли белковые фракции. Определение иммуноглобулинов G, M, A осуществили методом простой радиальной диффузии в геле по G. Manchini et al. (1965). Биохимические показатели крови определяли на биохимическом анализаторе «CORMAY LUMEN».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Интенсивность инвазии у опытных телят на протяжении наблюдений составляла $258,8 \pm 28,6 - 95,04 \pm 34,34$ тыс. ооцист

криптоспоридий в 1 г фекалий.

Первым выраженным симптомом болезни была водянистая диарея, которая свидетельствует о задержании воды в просвете кишечника. Температура тела животных оставалась в пределах физиологической нормы. С развитием патологического процесса наблюдали угнетенное состояние, прогрессирующее исхудание и обезвоживание организма, профузную диарею с прожилками крови. За весь период наблюдений имелись случаи падежа телят от криптоспоридоза.

У телят, инвазированных криптоспоридиями, выявили увеличение количества эритроцитов на 6-й и 20-й дни наблюдения на 21,7 % и 26,8 % ($P<0,05$) соответственно в сравнении с показателями интактных животных, что обусловлено сгущением крови из-за потери организмом воды.

Анализ лейкограммы крови показал выраженное повышение уровня эозинофилов у телят, больных криптоспоридозом, на протяжении всего периода наблюдений,

который достиг пика к 13 дню опыта, превысив уровень контроля в 3,44 раза ($P<0,001$). Увеличение уровня эозинофилов в крови животных связано с паразитированием простейших и сенсibilизацией макроорганизма продуктами их жизнедеятельности, что и вызывает защитные реакции со стороны животного.

В лейкоцитарной формуле отмечалась нейтрофилия с регенеративным сдвигом ядра влево – процент палочкоядерных нейтрофилов увеличен и к 13 дню наблюдений составил $11,8\pm 1,28\%$, что на 84,4 % выше по отношению к интактным телятам ($P<0,01$).

Количество лимфоцитов к 20 дню после начала опыта у животных, инвазированных криптоспоридиями, было достоверно ниже на 17,4 % по сравнению с показателями незараженных животных ($P<0,01$).

Динамики изменений уровней Т- и В-лимфоцитов в крови инвазированных криптоспоридиями телят представлены на рисунках 1 и 2.

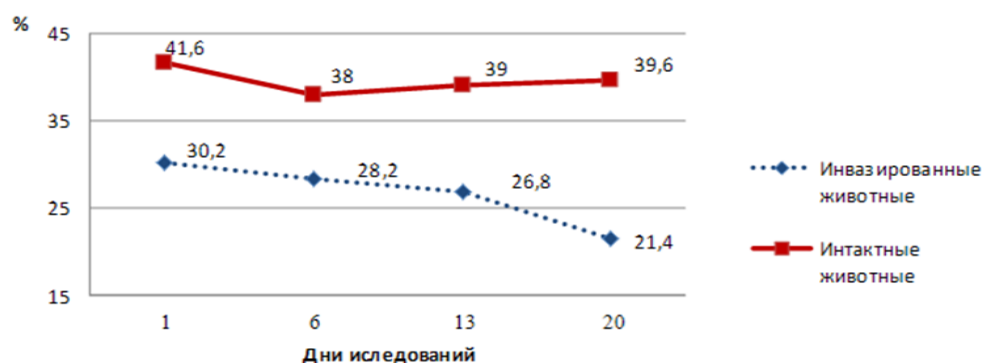


Рисунок 1 – Динамика содержания Т (Е-РОК)-лимфоцитов крови инвазированных криптоспоридиями телят, %



Рисунок 2 – Динамика содержания В (ЭМ)-лимфоцитов крови инвазированных криптоспоридиями телят

Количество Т (Е-РОК)-лимфоцитов в крови телят, больных криптоспориديозом, в начале исследований было ниже на 27,4 % ($P<0,05$), в конце исследования – на 46,0 % ($P<0,001$), чем в крови интактных животных (рисунок 1), в результате чего происходит ослабление иммунной защиты организма.

Исследование количества розеткообразующих В-клеток в динамике является важным моментом в оценке иммунологической реактивности организма животного, так как В-лимфоциты являются предшественниками антителосинтезирующих плазматических клеток, обеспечивающих гуморальные реакции иммунитета.

Количество В (ЭМ)-лимфоцитов в крови 9–15-тидневных телят составляло $2,8\pm 0,97$ – $4,6\pm 1,08$ %, что говорит о низком уровне пассивного иммунитета, приобретенного от матерей (рисунок 2). С возрастом происходит значительное повы-

шение уровня В (ЭМ)- лимфоцитов у всех исследуемых телят. Этот показатель был ниже у инвазированных животных по отношению к контрольной группе на 46,4 % к 13 дню наблюдений ($P<0,01$).

Изучение процентного соотношения фракций белка сыворотки крови позволяет в определенной мере судить об иммунореактивности организма и помогает контролировать характер и степень воздействия того или иного антигена на организм животного.

У телят, инвазированных криптоспоридами, сначала опыта отмечалось достоверное увеличение концентрации белка в сыворотке крови на 12,7 % ($P<0,05$) в сравнении с интактными телятами (рисунок 3). Это отразилось и на протеинограмме – достоверное увеличение уровня альбуминов на 14,4 % ($P<0,01$), β - и γ - глобулинов – на 14,04 % ($P<0,05$) и 13,2 % ($P<0,05$) соответственно.

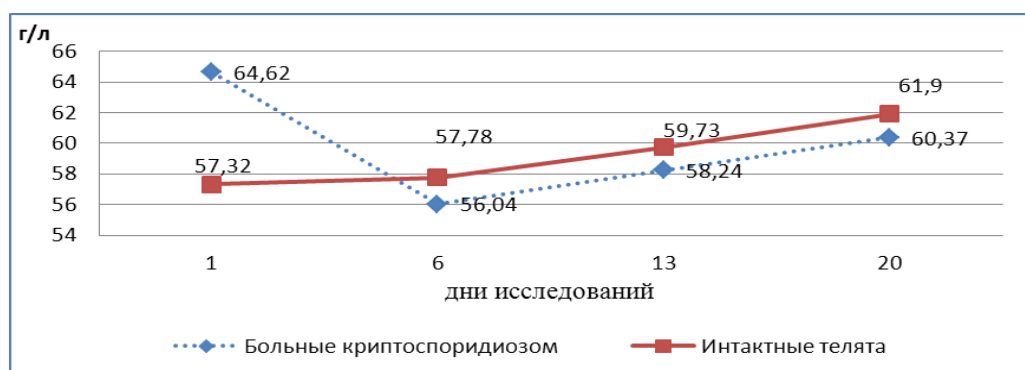


Рисунок 3 – Динамика общего белка в сыворотке крови телят, больных криптоспоридиозом

Возможно, что в первые дни заболевания гиперпротеинемия имеет относительный характер как следствие сгущения крови при диарее [5].

На 6-й день опыта нами отмечено достоверное превышение содержания фракции α_2 -глобулинов у больных телят на 6,63 % ($P<0,05$) в сравнении с показателями интактных телят, что указывает на альтеративные процессы. Компоненты фракции α_2 -глобулинов (гаптоглобин, α_2 -мак-

роглобулин и церулоплазмин) являются «реактантами острой фазы», и содержание их в крови повышается при острых и хронических воспалительных заболеваниях, протекающих с повреждением тканей [5].

С возрастом у некоторых телят признаки болезни начали затухать, появился аппетит, частота дефекации нормализовалась. Содержание общего белка и его фракции не имели достоверных различий с таковыми показателями интактных телят и

приближались к ним.

При исследовании отдельных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови телят, инвазированных криптоспоридиями, нами было отмечено уменьшение содержания иммуноглобулинов класса G на 23,1 % ($P < 0,05$) по сравнению с интактными животными. Количество IgM в крови опытных телят на протяжении всего периода наб-

людений достоверно превышало показатели интактных телят. Также было отмечено значительное достоверное увеличение концентрации иммуноглобулинов класса A в крови инвазированных телят на 55,7 % ($P < 0,05$) в сравнении с показателями контрольной группы. Это указывает на активацию иммунного ответа в слизистой кишечника.



Рисунок 4 – Динамика циркулирующих иммунных комплексов в крови телят при криптоспоридиозе, о.е.

Повышенный уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови телят, больных криптоспоридиозом, (максимальное достоверное увеличение в 29–35-дневном возрасте в 2,38 раза ($P < 0,01$)) свидетельствует о наличии специфического взаимодействия антиген-антитело и снижении активности гуморального звена иммунной системы [4].

Анализируя показатели функционирования ферментативных систем у телят, больных криптоспоридиозом, было отмечено достоверное увеличение активности в сыворотке крови таких ферментов, как аланинаминотрансфераза на 22,39–22,94% ($P < 0,05$), аспартатаминотрансфераза – на 50,68 % ($P < 0,01$), щелочная фосфатаза – на 24,74% ($P < 0,05$), γ -глутамилтрансфераза – в 2,38–3,28 раза ($P < 0,05$) по сравнению с интактными животными, что указывает на интоксикацию больных телят (таблица 1).

У инвазированных животных соотношение кальция к фосфору на протяжении всего периода наблюдений было от 1,03:1 и до 1,28:1. Течение криптоспоридиозной инвазии у телят сопровождалось снижением концентрации магния в 2,36 раз ($P < 0,05$) по отношению к интактным телятам. Содержание железа в сыворотке крови телят, инвазированных криптоспоридиями, не имело достоверных различий с показателями интактных животных. Однако его уровень был в пределах $12,62 \pm 1,54$ – $13,48 \pm 1,45$ мкмоль/л на 6–20-й дни наблюдения, что ниже нормальных физиологических показателей для данной возрастной группы крупного рогатого скота. Дефицит железа и магния в организме приводит к выраженному нарушению клеточного иммунитета, а именно, к снижению функциональной активности Т-лимфоцитов.

Таблица 1 – Динамика ферментов в сыворотке крови телят, больных криптоспориозом, Ед/л (М±m, Р)

Группы телят	День опыта			
	1-й	6-й	13-й	20-й
АлАТ				
больные криптоспориозом	13,94±0,86*	14,47±0,71*	14,34±1,08	18,86±1,33
интактные	11,39±0,65	11,77±0,87	12,58±0,84	17,01±2,9
АсАТ				
больные криптоспориозом	38,29±0,89	37,81±1,92	51,46±3,39**	48,19±6,29
интактные	36,63±1,94	33,68±2,23	34,15±2,20	31,9±3,31
Щелочная фосфатаза				
больные криптоспориозом	190,06±17,67	265,82±27,33	241,64±10,97*	207,48±15,01
интактные	175,42±15,99	202,66±38,62	193,72±10,19	204,42±13,84
γ-глутаминтрансфераза				
больные криптоспориозом	246,71±41,30*	136,08±31,80	113,65±28,10*	114,37±26,98*
интактные	100,17±17,41	74,7±15,78	34,68±3,52	48,08±7,86

Примечание – *Р<0,05; **Р <0,01

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлены следующие патофизиологические изменения, протекающие в организме телят, больных криптоспориозом:

- повышение уровня эозинофилов в 3,44 раза (Р<0,001) и палочкоядерных нейтрофилов на 84,4 % (Р<0,01), снижение количества лимфоцитов на 17,4 % (Р<0,01);
- снижение уровня иммунокомпетентных клеток Т (Е-РОК)- и В (ЭМ)-лимфоцитов на 46,0 % (Р<0,001) и 46,4 % (Р<0,01) соответственно;
- дисбаланс белков сыворотки крови в

организме телят и повышение уровня циркулирующих иммунных комплексов;

- снижение продукции иммуноглобулинов класса G на 23,1 % (Р<0,05) и увеличение продукции иммуноглобулина класса А на 55,7 % (Р<0,05);

- усиление элиминации в кровь АсАТ, АлАТ, щелочной фосфатазы и γ-глутаминтрансферазы, снижение кальция-фосфорного соотношения до 1,03:1 и концентрации магния в 2,36 раза (Р<0,05).

Все это в совокупности свидетельствует о снижении иммунитета при криптоспориозе телят.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Иммуитет и его коррекция в ветеринарной медицине / П.А. Красочко, М.В. Якубовский [и др.]; под общей ред. П.А. Красочко. – Смоленск, 2001. – 322 с.
- 2 Карпуть, И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка / И.М. Карпуть. – Минск: Ураджай, 1993. – 288 с.
- 3 Паразитарные зоонозы / М. В. Якубовский [и др.]; под. ред. М. В. Якубовского. – Минск: Наша Идея, 2012. – 384 с.
- 4 Роль иммунодефицитов в патогенезе желудочно-кишечных и респираторных заболеваний телят и поросят и система их профилактики и коррекции / А.И. Ануфриев [и др.] // Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных : материалы науч.-практ. конф./ орг-комитет конф.: С.В. Шабунин [и др.]. – Воронеж : Научная книга, 2006. – С.10–19.
- 5 Электрофорез в клинической лаборатории. Белки сыворотки крови / О.П. Шевченко [и др.]. – Реафарм, 2006. – 151с.
- 6 Якубовский, М.В. Криптоспориоз животных в Белоруссии / М.В. Якубовский, Т.Я. Мяцова, С.И. Лавор // Ветеринарная наука - производству: Межведомственный сборник / Белор. научно-исслед. институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышеселеского. – Минск, 1992. – Вып.30. – С. 114–119.
- 7 Antibody responses following administration of a *Cryptosporidium parvum* rCP15/60 vaccine to pregnant cattle / A.J. Burton [et al.] // Veterinary Parasitology. – 201. – Volume 175. – P. 178–181.
- 8 *Cryptosporidium* is common in dairy calves. National Dairy Heifer Evaluation Project (1991–1992) / U.S. Department of Agriculture (USDA) [Electronic resource]. – 1993. – Available at: <http://nahms.aphis.usda.gov/dairy/#ndhep>. – Date of access 31.10.2013.

Пахноцкая О. П., исследователь ветеринарных наук

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

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНАХ ИММУНИТЕТА, ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА И ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ТЕЛЯТ ПРИ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ

Резюме

В статье представлены результаты иммуноморфологических исследований тимуса, селезенки, мезентериальных лимфоузлов, патоморфологические изменения в подвздошной кишке и структурно-функциональные изменения в щитовидной железе телят при криптоспориidioзе. При криптоспориidioзе у телят в органах иммуногенеза выявлены деструктивные изменения: разрежение иммунокомпетентных клеток в селезенке и отсутствие первичных фолликулов в брыжеечных лимфоузлах, уменьшение коркового плато тимуса.

Summary

The article presents the results of immunomorphological studies of the thymus, spleen, mesenteric lymph nodes, pathological changes in the ileum and structural-functional changes in the thyroid gland of calves infected cryptosporidium. In calves infected cryptosporidium in the organs of immunogenesis revealed destructive changes reducing the number of immune cells in the spleen and absence of primary follicles in mesenteric lymph nodes, reducing the cortex layer of the thymus.

Поступила в редакцию 09.03.2016 г.

ВВЕДЕНИЕ

Основной процент гибели молодняка сельскохозяйственных животных приходится на первые недели жизни, а общие потери по причине желудочно-кишечных заболеваний, сопровождающиеся диареей, составляют около 50 % от общего падежа новорожденных животных. Это связано со структурно-функциональной незрелостью пищеварительного аппарата и органов иммунитета, а также несоблюдением условий содержания животных [1, 7, 8]. Особое место среди заболеваний молодняка занимает криптоспориidioз – протозойное зоонозное заболевание животных и человека, вызываемое кокцидиями семейства *Cryptosporidiidae* Leger, 1911; рода *Cryptosporidium* Tyzzer, 1910, характеризующееся поражением эпителия различных полостных органов – преимущественно кишечника и органов дыхания [3].

Криптоспориidioз телят является актуальной проблемой, требующей исследо-

ваний по более детальному изучению симптомокомплекса, характера биохимических и иммунологических изменений, происходящих в организме телят, что позволит правильно организовать мероприятия по лечению и профилактике криптоспориidioзной инвазии.

Важным научным направлением в ветеринарии является исследование структурно-функциональных особенностей организации тонкого кишечника, органов иммунитета телят при криптоспориidioзе, что приблизит нас к пониманию механизмов развития компенсаторно-приспособительных реакций у животных при данной инвазии.

Большое значение в формировании первичной иммунологической реактивности принадлежит тимусу, который предопределяет тип дифференцировки стволовых клеток в лимфоциты, участвующие в иммунных реакциях клеточного типа [6].

Селезенка и лимфоузлы являются пе-

риферическими органами иммунитета, в которых происходит антигензависимая пролиферация и дифференцировка Т- и В-лимфоцитов, их активация, а также в них синтезируются антитела [4, 5, 6].

Наш интерес к щитовидной железе вызван тем, что она является одним из основных звеньев гуморальной регуляции физиологических процессов, протекающих в организме. Щитовидной железе принадлежит основополагающая роль в процессах регуляции клеточного метаболизма, формирования, роста и развития организма, а также в защитно-приспособительных реакциях, обусловленных влиянием факторов окружающей среды. Она контролирует обмен энергии и оказывает влияние на деятельность различных систем организма [6].

Таким образом, **целью** нашей работы было изучение иммуноморфологических изменений в тимусе, селезенке, брыжеечных лимфоузлов, тонкого кишечника и щитовидной железы телят при криптоспориозе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалом для патоморфологических исследований служили образцы селезенки, тимуса, щитовидной железы, участки подвздошной кишки и региональные лимфоузлы от 7–9-тидневных павших и вынужденно убитых телят. Кусочки органов отбирали в соответствии с правилами взятия патологического материала для гистологических исследований [2]. Патматериал фиксировали в 10 %-м растворе нейтрального формалина.

Гистологические исследования проводили в лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии УО «ВГАВМ». Гистологическую обработку тканей для заливки в парафиновые блоки проводили на автомате STP-120 карусельного типа. Парафиновые блоки изго-

тавливали при помощи станции для заливки в парафин ЕС 350, парафиновые срезы толщиной 3–6 мкм – на ротационном микротоме HM 340E.

Полученные срезы окрашивали гематоксилином-эозином в автомате линейного типа HMS-70. На готовые препараты наносили полистерол и накрывали покровными стеклами. Иммуноморфометрические исследования проводили методом световой микроскопии и компьютерной морфометрии с использованием программ ImagM и CellSens Standard.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При патологоанатомическом вскрытии телят были выявлены поражения слизистой оболочки на участке подвздошной кишки. Окончательный диагноз на криптоспориоз ставили по результатам микроскопии соскобов с пораженных участков кишечника, в положительном случае обнаруживали 5–25 ооцист криптоспоридий в поле зрения микроскопа.

При микроскопическом исследовании подвздошной кишки инвазированных криптоспоридиями телят мы отметили, что мышечная и серозная оболочки несколько истончены, с очагами клеточной инфильтрации. Межмышечная соединительная ткань отека, местами инфильтрирована единичными моноцитами, нейтрофилами. Собственная пластинка слизистой оболочки отека, инфильтрирована такими иммунными клетками, как лимфоциты, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы, а также плазматические клетки. Апикальная часть ворсинок изредка была десквамирована, а микроворсинки атрофированы. В просвете кишечных крипт обнаруживались следы слизи, единичные клетки слущенного эпителия, лимфоциты, единичные плазматические клетки. Отмечается выраженная гиперемия сосудов и кровоизлияния (рисунок 1).

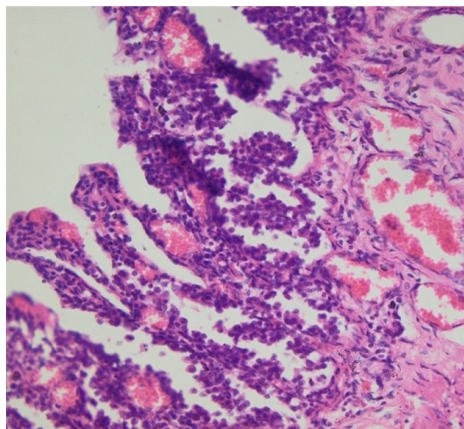


Рисунок 1 – Микрофото пораженного участка подвздошной кишки (окраска гематоксилин-эозин, увеличение $\times 250$)

Кишечно-ассоциированная лимфоидная ткань у инвазированных телят характеризовалась отсутствием первичных фолликулов, выявлена только диффузная лимфоидная ткань, что свидетельствует о несформированности иммунологической реактивности организма.

При микроскопическом исследовании на окрашенных гистосрезках в большинстве долек тимуса различали темную корковую зону, расположенную по периферии, и более светлую мозговую, занима-

ющую центральную часть дольки, с четкой границей между ними.

Тимус интактных телят характеризовался крупными дольками с четко выраженным корковым и мозговым веществом. Между дольками хорошо видны узкие прослойки соединительной ткани. В мозговом слое встречаются одноклеточные и многоклеточные тельца Гассала. Диаметр коркового вещества тимуса составлял $491 \pm 17,0$ мкм, мозгового $409,33 \pm 14,14$ мкм (таблица 1).

Таблица 1 – Микропараметры структурных компонентов тимуса ($M \pm m$, P)

Показатели	Интактные животные	Инвазированные животные
толщина коркового слоя, мкм	$491,0 \pm 17,0$	$329,67 \pm 15,29$
толщина мозгового слоя, мкм	$409,3 \pm 14,14$	$294,33 \pm 12,02$
площадь дольки, мкм^2	$576,2 \pm 23,43$	$469,00 \pm 16,77^{**}$
площадь мозгового слоя	$177,2 \pm 4,14$	$192,33 \pm 6,26$
коркового слоя	$399,0 \pm 21,86$	$276,67 \pm 11,67^{**}$

Примечание – $^{**}P < 0,01$

При морфологическом исследовании тимуса от телят, инвазированных криптоспориями, в отдельных дольках тимуса мы наблюдали, что граница коркового и мозгового вещества нечетко выражена, с разреженным расположением в них клеток. Площадь сформированных долек составляла $469 \pm 16,77$ мкм^2 при показателях у интактных телят $576,2 \pm 23,43$ мкм^2 ($P < 0,01$), отмечено уменьшение площади коркового слоя на 30,7 % ($P < 0,01$), непосредственно ответственного за дифферен-

цировку и количество Т-лимфоцитов, и расширения площади мозгового вещества на 8,5 % в сравнении с показателями интактных телят.

Коэффициент, характеризующий соотношение размеров корковой и мозговой зон тимуса, был равен 1,12 у инвазированных криптоспориями телят. Уменьшение площади коркового вещества тимуса свидетельствует об ослаблении митотической активности тимоцитов и усилением их миграционной способности в процессе

формирования противовирусного и противопаразитарного иммунитета.

В селезенке инвазированных телят преобладала соединительная и ретикулярная ткани со слабо выраженной дифференциацией на белую и красную пульпу.

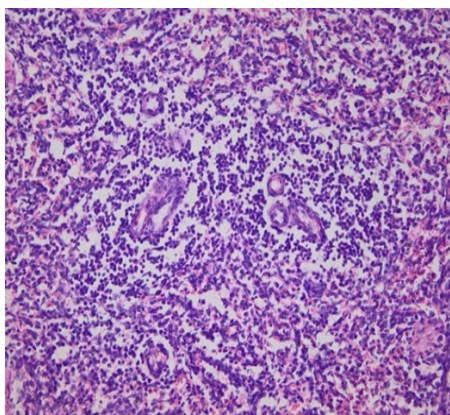


Рисунок 2 – Микрофото селезенки инвазированного теленка (окраска гематоксилин-эозин, увеличение x250)

Результаты морфометрического измерения площадей структурных компонентов селезенки показали, что площадь сформированных первичных лимфатических фолликулов у инвазированных телят была $5996,86 \pm 1168 \text{ мкм}^2$, что в 2,32 раза ($P < 0,05$) меньше площади первичных фолликулов в селезенке intactных телят (рисунок 3). Также отмечено уменьшение

Лимфоидная ткань в небольших количествах была диффузно рассеяна в паренхиме органа в виде островков лимфобластов, малых лимфоцитов, макрофагов (рисунок 2).

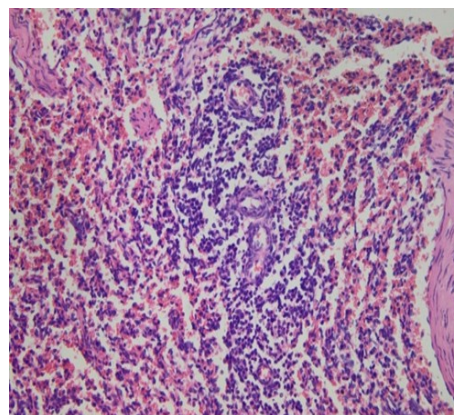
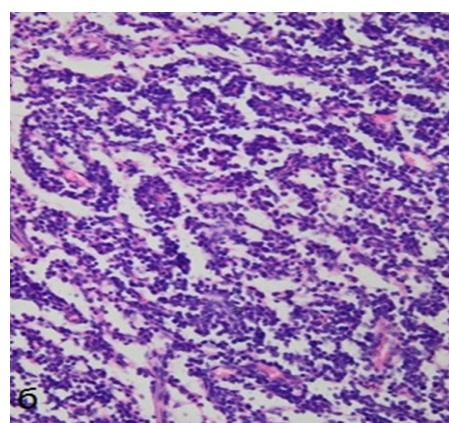
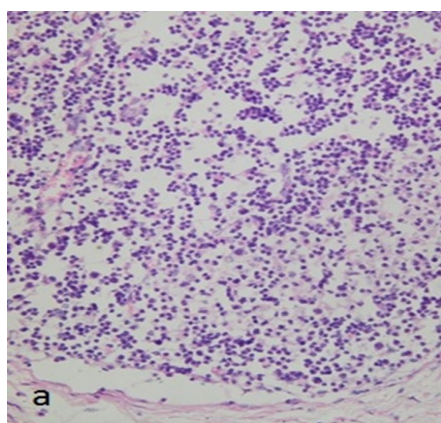


Рисунок 3 – Микрофото селезенки неинвазированного теленка (окраска гематоксилин-эозин, увеличение x 250)

количества лимфоцитов на 1 см^2 среза на 21,7 % ($P < 0,001$) в сравнении с показателями у intactных телят.

В брыжеечных лимфатических узлах у intactных телят при морфометрических исследованиях выявляли единичные компонентные зачатки первичных лимфатических узелков площадью $874,72 \pm 36,39 \text{ мкм}^2$ (рисунок 4б).

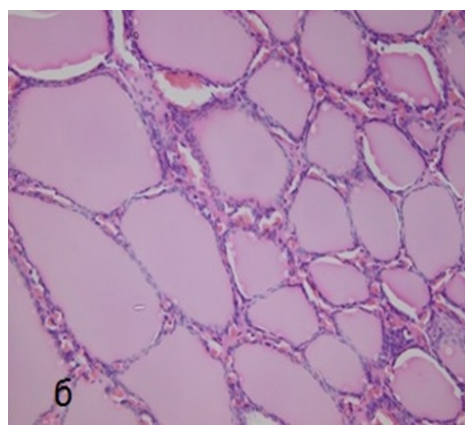
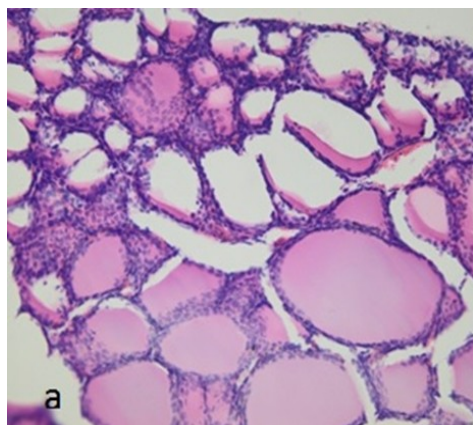


**Рисунок 4 – Микрофото брыжеечного лимфоузла теленка (окраска гематоксилин-эозином, увеличение x250)
Региональный лимфоузел: а – инвазированного теленка;
б – intactного теленка**

В лимфатических узлах инвазированных телят отмечены признаки, свойственные иммунологической незрелости, которые характеризуются отсутствием сформированных лимфоузелков и появлением немногочисленных скоплений из малых лимфоцитов вокруг артериол площадью $636,02 \pm 32,13 \text{ мкм}^2$. Четкая граница между корковым и мозговым веществом отсутствовала (рисунок 4а). Плазматические клетки отсутствовали. Незначительные уплотнённые участки лимфоидной ткани не содержат центров размножения. Учитывая то, что последние являются местом расположения лимфоцитов, трансформирующихся в плазмциты, можно говорить о значительном ослаблении гуморального иммунитета организма. Паракортикальная зона органа также бедна лимфоцитами.

Она является основной тимусзависимой зоной лимфатических узлов. Её слабое развитие свидетельствует о снижении клеточной иммунологической защиты.

При исследовании срезов щитовидной железы нами отмечено, что щитовидная железа характеризуется наличием различных по величине фолликулов с преобладанием средних ($51,41\text{--}53,01\%$), имеющих чаще округлую или овальную форму, заполненных плотным, хорошо красящим коллоидом (рисунок 5б). У инвазированных телят просвет фолликулов заполнен коллоидом однородной структуры, но также отмечаются резорбционные вакуоли. Были выявлены участки в железе – своеобразные конгломераты в виде узлов, образованные в результате слияния фолликулов после их разрыва (рисунок 5а).



**Рисунок 5 – Щитовидная железа (окраска гематоксилин-эозин, увеличение $\times 250$)
а – инвазированного теленка; б – интактного теленка**

Тиреоидный эпителий у неинвазированных телят кубической формы, у инвазированных животных наряду с тиреоцитами кубической формы встречались и уплощенные клетки, что говорит о снижении функциональной активности органа.

Для оценки функциональной активности щитовидной железы нами был использован индекс А.А. Брауна. В основу этого индекса положено отношение диаметра фолликула к высоте тиреоидного эпителия. Чем ниже цифровое выражение индекса, тем более функционально актив-

ной является железа и наоборот, чем она выше, тем ниже активность органа [1, 6].

Высота тиреоцитов у инвазированных телят составляет $4,99 \pm 0,31 \text{ мкм}$, что на $21,9\%$ меньше, чем у интактных телят – $6,39 \pm 0,345 \text{ мкм}$. Индекс Брауна у инвазированных животных увеличен на $33,1\%$, что свидетельствует об интенсивном накоплении коллоида. Данные цифры говорят о том, что у инвазированных криптоспоридиями телят отмечается тенденция к проявлению гипофункции щитовидной железы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При иммуноморфологическом исследовании органов иммунитета, подвздошной кишки и щитовидной железы телят при криптоспориidioзе установлено:

- деструктивные изменения в тимусе, проявляющиеся в уменьшении площади коркового слоя на 30,7 % ($P < 0,01$), непосредственно ответственного за дифференцировку и количество Т-лимфоцитов;

- отсутствие сформированных лимфатических фолликулов с реактивными светлыми центрами в селезенке, площадь сформированных первичных фолликулов уступала в 2,32 раза ($P < 0,05$) площади первичных фолликулов у интактных телят, обеднение лимфофолликулов лимфоцитами на 21,7 % ($P < 0,001$);

- в брыжеечных лимфатических узлах

четкая граница между корковым и мозговым веществом не просматривалась, первичные лимфоузлы отсутствовали;

- собственная пластинка слизистой оболочки подвздошной кишки инфильтрована лимфоцитами, макрофагами, нейтрофилами, эозинофилами, а также плазматическими клетками. Апикальная часть ворсинок десквамирована, а микроворсинки атрофированы;

- в щитовидной железе просматривались участки слияния фолликулов после их разрыва; тиреоидный эпителий имел плоскую форму высотой $4,99 \pm 0,31$ мкм, что 21,9% ($P < 0,05$) меньше высоты у интактных телят; индекс Брауна увеличен на 33,1 %, что свидетельствует об интенсивном накоплении коллоида и низкой активности органа.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Криштофорова, Б.В. Морфологические критерии жизнеспособности организма неонатальных телят / Б.В. Криштофорова // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал. – 2011. – Т. 47, вып. 1. – С. 259–262.
- 2 Меркулов, Г.А. Курс патолого-гистологической техники / Г.А. Меркулов. – М. : Медицина, 1961. – 339 с.
- 3 Никитин, В.Ф. Криптоспориоз домашних животных: (возбудители, клиническая картина, эпизоотология, диагностика, профилактика и терапия) / В.Ф. Никитин; Всерос. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. – Москва: [б.и.], 2007. – 36 с.
- 4 Пронин, А. В. Морфологическая характеристика селезенки телят черно-пестрой породы на раннем этапе постнатального развития / А. В. Пронин // Актуальные проблемы и перспективы развития агропромышленного комплекса: международная научно-методическая конференция, 17-18 апреля 2010./ ред. А. М. Баусов [и др.]. – Иваново, – 2010. Т.2.– С. 63–65.
- 5 Пронин, А. В. Морфофункциональная оценка висцеральных лимфатических узлов у телят черно-пестрой породы на ранних этапах онтогенеза / А. В. Пронин // Актуальные проблемы и перспективы развития агропромышленного комплекса: международная научно-методическая конференция, 17–18 апреля 2010, ред. А. М. Баусов [и др.]. – Иваново.– 2010. Т.2.–С. 65–67.
- 6 Соколов, В.И. Цитология, гистология, эмбриология : учебник для студентов высших учебных заведений по специальности «Ветеринария» / В.И. Соколов, Е.И. Чумасов; Ред. В.В. Ракитская. – Москва : КолосС, 2004. – 351 с.
- 7 Тумилович, Г. А. Структурно-функциональная организация подвздошной кишки новорожденных телят / Г. А. Тумилович // Ученые записки учреждения образования "Витебская государственная академия ветеринарной медицины" : научно-практический журнал. – 2014. – Т. 50, вып. 1, ч. 1. – С. 150–154.
- 8 Ульянов, В.Г. Морфогенез органов пищеварения телят в онтогенезе, норме и патологии / В.Г. Ульянов // Диагностика и профилактика болезней с.-х. животных: сб. науч. тр. – Саратов, 1992. – С. 64–66.

Мартынова М.А., кандидат химических наук ¹

Бушмакина И.М., кандидат биологических наук ¹

Карпович А.И., лаборант ¹

Красочко П.А., доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор ²

Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук ²

Шуканова Н.А., кандидат биологических наук ¹

¹ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минск

²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», Минск

ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ГРАНУЛОЦИТОВ В ПРИСУТСТВИИ ИММУНОСТИМУЛЯТОРОВ

Резюме

В экспериментах *in vitro* изучена фагоцитарная активность свежесыведенных нейтрофильных гранулоцитов и их первичной культуры при взаимодействии с различными иммуностимуляторами. Установлено, что коммерческий препарат «Альвеозан» существенно стимулирует функциональную активность фагоцитов, однако по своему действию он значительно уступает иммуностимулятору, созданному на основе липополисахаридов из штамма № 22 бактерий *Bacillus subtilis*, причем эффект развивается в течение 60 минут.

Summary

The effect of the different bacterial immunostimulators on phagocyte activity of isolated granulocyte and primary culture of this cells *in vitro* was studied. Commercial drug Alveozan essentially stimulated of phagocyte activity, but considerable yield to the immunostimulator from *Bacillus subtilis*, it being known that this effect developed during 60 minutes.

Поступила в редакцию 18.01.2016 г.

ВВЕДЕНИЕ

Важное значение в поддержании здоровья и продуктивности животных наряду с сердечно-сосудистой, эндокринной, нервной и другими системами имеет и иммунная система организма. Расстройство функции иммунокомпетентных органов приводит к нарушениям гомеостаза, специфическим болезням, снижает общую сопротивляемость организма к различным патогенам и сопровождается рядом неспецифических проявлений, таких как задержка роста и развития молодняка, снижение продуктивности и воспроизводительной функции взрослых животных, ослабление репаративных процессов при повреждении.

В ветеринарной практике чаще встречаются заболевания, обусловленные иммунодефицитными состояниями, но иног-

да отмечаются и болезни, связанные с повышением активности иммунной системы – аутоиммунные заболевания, такие как системная красная волчанка, полиартриты, ревматоидный артрит и др. В любом из этих случаев необходима фармакокоррекция животного организма. Для этой цели разработано множество препаратов, которые могут оказывать либо общее (или неспецифическое) действие на естественную резистентность организма, либо влиять на отдельные звенья иммунитета – на гуморальный (интерферон, гамма-глобулины и т.п.), клеточный (лимфоциты, макрофаги) и их взаимодействия между собой и другими системами организма (цитокины).

Лекарственные соединения, повышающие иммунореактивность и резистентность организма, относят к иммуностиму-

ляторам, средства, подавляющие такие реакции, относят к иммунодепрессантам и, наконец, субстанции, нормализующие резистентность и иммунореактивность животных, относят к иммуномодуляторам.

Иммуностимуляторы используются для повышения адаптивных возможностей организма при экстремальных ситуациях, для формирования невосприимчивости животных к заболеваниям в очагах патологий, для восстановления сниженного иммунитета.

Поскольку иммунная система организма является единой, то действие любого иммуностимулятора вызывает ответную реакцию всей системы, хотя для обезвреживания определенных патогенов достаточно мобилизации и включения только какого-то одного звена. Однако следует отметить, что для успешного поддержания здоровья животных применения одних иммуностимуляторов недостаточно. Их необходимо применять только в сочетании с комплексами витаминов, микроэлементов, при рациональном кормлении животных и использовании установленной вакцинации.

Следует отметить, что в последние десятилетия все больше растет влияние различных техногенных факторов на организм, что приводит к появлению системных патологий, которые требуют корректировки с помощью различных лекарственных средств. В связи с этим в фармакологии появились новые направления: иммунофармакология и стрессофармакология.

На сегодняшний день в ветеринарной практике используется широкий спектр различных иммуностимуляторов, однако продолжает оставаться актуальной разработка и внедрение в практику ветеринарии новых отечественных высокоэффективных иммуностимулирующих препаратов для лечения и профилактики вирусных и паразитарных болезней.

В РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»

создан новый иммуностимулятор бактериального происхождения для ветеринарии на основе липополисахаридов штамма № 22 бактерий *Bacillus subtilis*. Данный препарат относится к биологическим иммуностимуляторам, а точнее к группе препаратов из микроорганизмов согласно классификации [1]. Иммуностимуляторы оказывают на иммунную систему организма животных значительное влияние, причем воздействуют как на гуморальные факторы иммунитета, так и на клеточное звено, повышают активность иммунокомпетентных клеток, создают устойчивость организма к воздействию инфекционных агентов. Развивающиеся тенденции в создании новых эффективных иммуномодуляторов на основе современных технологий позволяют надеяться на решение проблемы иммунокоррекции [3].

Целью настоящей работы являлось проведение сравнительного анализа действия нового иммуностимулятора бактериального происхождения и коммерческого препарата «Альвеозан» на функциональное состояние фагоцитов периферической крови животных в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали новый иммуностимулятор бактериального происхождения из штамма № 22 бактерий *Bac. subtilis* и коммерческий препарат «Альвеозан».

Исследования проводили на фагоцитах периферической крови морских свинок. Нейтрофильные гранулоциты (НГ) выделяли стандартным способом центрифугирования в градиенте плотности фиколлюрографина. Суспензию клеток высевали на чашки Петри в конечной концентрации $3,5 \times 10^5$ фагоцитов на чашку (камера Горяева), добавляли 3 мл среды DME, 30 мкг 0,1% гентамицина, 300 мкл сыворотки и культивировали 2 часа при температуре 37°C в суховоздушном CO₂-инкубаторе HERAcell 150. Жизнеспособность НГ составляла 98 %. Поскольку НГ являются классическими фагоцитами – имеют адге-

живность, подвижность, способность к хемотаксису, а также способность захватывать частицы – они адгезируют к поверхности чашки Петри, количество таких клеток достигает 97 %. Жидкую фазу аккуратно отсасывали, к НГ добавляли 3 мл свежей среды DME (без антибиотика), 50 мкл индифферентных частиц туши (1/200) и 250 мкл исследуемых иммуностимуляторов с последующим культивированием при температуре 37°C в суховоздушном CO₂-инкубаторе HERAccl 150 в течение 60 мин и 24 часов. В качестве контроля выступали НГ, инкубированные в течение исследуемого времени в среде DME (без антибиотика) с добавлением чужеродных частиц туши. Жизнеспособность контрольных образцов составляла: через 60 мин. инкубации – 98 %, после 24 ч инкубации – 95 %.

После инкубации чашку Петри промывали, клетки фиксировали метанолом, окрашивали по Романовскому-Гимза и микроскопировали с применением иммерсионного объектива [2].

Фагоцитарную активность нейтрофильных гранулоцитов периферической крови оценивали по способности поглощать индифферентные частицы туши. В качестве показателей, характеризующих поглотительную способность фагоцитов, определяли фагоцитарный показатель – процент фагоцитирующих клеток от общего числа фагоцитов и фагоцитарное число – среднее количество частиц туши, поглощенных одним активным фагоцитом (отн.ед.) [2].

С целью получения статистически достоверных значений измеряемых величин опыты проводили не менее 5 раз. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали пакеты программ «Microsoft Excel 2010», «Origin 7.5». Результаты опытов обрабатывали статистически с вычислением средней арифметической, стандартным отклонением и достоверности различий (p) по критерию Стьюдента-Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Фагоцитоз в настоящее время считают одним из основных критериев оценки состояния иммунного статуса, являющегося фундаментальной составляющей иммунной защиты организма. Это обусловлено тем, что филогенетически фагоцитоз является наиболее древним защитным приспособлением, на основе которого эволюционно сформировалась вся система иммунной защиты. Клетки, осуществляющие фагоцитоз (нейтрофилы, моноциты, макрофаги), называют общим термином – фагоциты. Основным звеном фагоцитарной системы организма являются нейтрофилы крови, и оценка их функциональной активности считается ценным диагностическим критерием.

Для изучения влияния иммуностимуляторов на фагоцитарную активность НГ использовали свежевыделенные нейтрофилы и первичную культуру этих клеток. Соответственно оценивали влияние иммуностимуляторов на свежевыделенные НГ (60 мин инкубации с исследуемыми препаратами), одновременно проводили длительную инкубацию с первичной культурой нейтрофильных гранулоцитов (24 часа совместного культивирования). С этой целью к клеткам, выделенным от одного и того же животного, добавляли либо новый иммуностимулятор бактериального происхождения, либо коммерческий препарат «Альвеозан» в концентрации 250 мкл на 3 мл среды с последующей инкубацией НГ в течение исследуемого времени. Параллельно инкубировались контрольные образцы клеток без добавления иммуностимуляторов. Необходимость одновременного исследования двух клеточных вариантов была продиктована тем, что эффекты, которые вызывают иммуностимуляторы в клетках, могут быть пролонгированы во времени.

Установлено, что у контрольных свежевыделенных нейтрофильных гранулоцитов крови, инкубированных в течение 60 мин в среде без иммуностимуляторов

(жизнеспособность клеток составляет 98 %), фагоцитарный показатель составляет $10,6 \pm 1,6$ %, то есть только 10 нейтрофилов из 100 способны к фагоцитозу. Кроме того, в контрольных клетках максимальное число захвата чужеродных частиц одним активным фагоцитом составляет 15 индифферентных частиц туши.

Внесение в среду инкубации клеток иммуномодуляторов существенно стимулируют фагоцитарную активность НГ.

Так, липополисахариды штамма №22

Bac. subtilis после 60-минутной инкубации с клетками существенно (более чем в 7 раз) повышают количество активных НГ, способных к фагоцитозу, $p < 0,01$ – по сравнению с контролем, где иммуностимуляторы отсутствуют (таблица 1). Причем следует отметить, что при использовании данного иммуностимулятора и фагоцитарное число существенно возрастает и достигает 85 ± 6 частиц туши на 1 активный фагоцит при $p < 0,05$ по сравнению с контролем (таблица 2).

Таблица 1 – Зависимость фагоцитарного показателя свежевыделенных нейтрофильных гранулоцитов (60 мин инкубации) и их первичной культуры (24 ч инкубации) от присутствия иммуностимуляторов в среде инкубации клеток

Исследуемые образцы	Фагоцитарный показатель, %	
	60 мин	24 ч
контроль (НГ)	$10,6 \pm 1,6$ n = 21	$11,1 \pm 2,1$ n = 20
НГ + новый иммуностимулятор на основе липополисахаридов штамма № 22 <i>Bac. subtilis</i>	$77,2^{**} \pm 7,3$ n = 17	$77,9^{**} \pm 7,0$ n = 19
НГ + препарат «Альвеозан»	$55,7^{*} \pm 4,9$ n = 20	$53,2^{**} \pm 4,4$ n = 18

Примечание – Различия статистически значимы по сравнению с контролем: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Таблица 2 – Зависимость фагоцитарного числа свежевыделенных нейтрофильных гранулоцитов (60 мин инкубации) и их первичной культуры (24 ч инкубации) от присутствия иммуностимуляторов в среде инкубации клеток

Исследуемые образцы	Фагоцитарное число, отн.ед.	
	60 мин	24 ч
Контроль (НГ)	15 ± 2 n = 17	16 ± 2 n = 20
НГ + новый иммуностимулятор на основе липополисахаридов штамма № 22 <i>Bac. subtilis</i>	$85^{*} \pm 6$ n = 14	$93^{**} \pm 2$ n = 15
НГ + препарат «Альвеозан»	$52^{**} \pm 2$ n = 14	$55^{**} \pm 3$ n = 18

Примечание – Различия статистически значимы по сравнению с контролем: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Аналогичная стимуляция функциональной активности НГ наблюдается и при использовании коммерческого препарата «Альвеозан», но абсолютный уровень ее был несколько ниже, чем в случае применения нового иммуностимулятора бактериального происхождения. В данном случае фагоцитарный показатель возрастает в 5 раз ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, а фагоцитарное число составляет 52 ± 2 чужеродных частиц при $p < 0,01$.

Во второй серии экспериментов была проведена длительная инкубация исследуемых иммуностимуляторов с первичной культурой нейтрофильных гранулоцитов (24 часа совместного культивирования). В контрольных образцах первичной культуры клеток (без иммуностимуляторов) фагоцитарный показатель составил $11,1 \pm 2,1$ % при $n = 20$, а фагоцитарное число составило 16 ± 2 при $n = 20$. Жизнеспособность нейтрофильных гранулоцитов в контроле – 95 %.

Установлено, что по сравнению с НГ после 60 минутной инкубации с исследуемыми веществами фагоцитарное число возрастает лишь незначительно: на $8,8 \pm 0,5$ % при $p < 0,01$ (для иммуностимулято-

ра бактериального происхождения) и на $4,4 \pm 0,1$ $p < 0,01$ % (для коммерческого препарата). При этом фагоцитарный показатель достоверно не изменялся (таблица 1, 2).

Таким образом, можно заключить, что эффект повышения фагоцитарной активности клеток под влиянием исследуемых иммуностимуляторов развивается достаточно быстро (в течение 60 мин совместного культивирования), причем в дальнейшем он сохраняется и не претерпевает существенных изменений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как известный коммерческий препарат «Альвеозан», так и созданный в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» новый иммуностимулятор на основе липополисахаридов штамма № 22 *Bac. subtilis* повышают функциональную активность фагоцитов периферической крови лабораторных животных по параметрам фагоцитарный показатель и фагоцитарное число, причем новый бактериальный препарат проявляет более высокую эффективность.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Красочко, П.А. Иммунокоррекция в клинической ветеринарной медицине / П. А. Красочко [и др.]; под редакцией П. А. Красочко. – Мн.: Техноперспектива. – 2008. – 507 с.
- 2 Щемелева, Н.Ю. Иммуностимуляторы: перспективы и эффективность применения / Н.Ю. Щемелева, М.В. Якубовский // Наше сельское хозяйство. – 2010. – № 2. – С. 22 – 34.
- 3 Лобанова, Е.М. Фагоцитарная активность стимулированных альвеолярных макрофагов в условиях гипоксии и гипертермии / Е.М. Лобанова, А.Д. Таганович // Белорусский медицинский журнал. – 2005. – Т. 11. – № 1. – С. 66 – 68.

Корм для пчел «Апифуд»



- ♦ предназначен для восполнения недостатка естественных кормов в пчелиных семьях в зимний период до поступления свежей пыльцы и нектара из природных источников;
- ♦ не вызывает возбуждения пчел, исключает их вылет и гибель в условиях низких весенних температур;
- ♦ потребление корма происходит непосредственно при поедании его пчелами и практически не используется для складирования в соты – этим исключается попадание корма в товарный мед;
- ♦ используется в зимний и ранне-весенний периоды;
- ♦ срок годности 12 месяцев при температуре хранения от плюс 4°C до плюс 25°C.

УДК 619:616.98:578.822.2:636.7

Усеня М.М., кандидат ветеринарных наук

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

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

Бучукури Д.В., кандидат ветеринарных наук

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

КОНСТРУИРОВАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО ГЕПАТИТА СОБАК

Резюме

В работе приводятся данные литературы и собственные исследования авторов по проблеме инфекционного гепатита собак в мире и в Республике Беларусь, а также методические подходы при конструировании вакцины и ее эффективности при лабораторных и производственных испытаниях.

Summary

The paper presents the literature data and the authors own research on the problem of infectious hepatitis dogs in the world and in the Republic of Belarus, as well as methodological approaches in the design of the vaccine and its effectiveness in laboratory and production tests.

Поступила в редакцию 09.03.2016 г.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекционный гепатит собак (*Contagious canine hepatitis*, *Infectious canine hepatitis*, *Canine viral hepatitis*, *Rubarths disease* (англ.); *Maladie de Rubarth* (франц.), *Rubarthsche Krankheit* (нем.)) – заразное воспаление печени собак, болезнь Рубарта, вирусный гепатит – остро-контагиозная болезнь, протекающая с лихорадкой, воспалительными процессами конъюнктивы, слизистой оболочки носовой полости, желудочно-кишечного тракта, печени и желчного пузыря, иногда сопровождающаяся нарушением деятельности центральной нервной системы.

Инфекционный гепатит собак (ИГС) зарегистрирован во многих странах мира, а также широко распространен в странах СНГ, в том числе и в Республике Беларусь. Для его характерно длительное (в течение нескольких лет) вирусоносительство. Скрытыми носителями вируса могут быть мыши, обезьяны, человек. Резервуар возбудителя – бродячие собаки и дикие звери. Источник возбудителя – больные животные и вирусоносители, выделяющие вирус с мочой, носовой слизью, калом, конъюнк-

тивальным секретом от нескольких недель до нескольких месяцев. Заражение происходит как при непосредственном контакте здоровых животных с больными, так и посредством эктопаразитов (вшей, блох). По некоторым данным, естественное заражение происходит через слизистые оболочки носовой и ротовой полостей, ЖКТ и половые органы. Установлены случаи распространения болезни при несоблюдении правил асептики и антисептики во время хирургических операций, прививок, взятия крови и др. [1–7].

Эпизоотии инфекционного гепатита носят сезонный характер, но чаще наблюдаются весной и летом при появлении молодняка. Спорадически же болезнь встречается в любое время года, что связано, в основном, с обострением латентного или хронического течения болезни под влиянием каких-либо неблагоприятных факторов. Заболеваемость и летальность значительно колеблются и зависят от состояния сопротивляемости организма и условий содержания животных. Самки-вирусоносители в течение ряда лет могут заражать своих щенков, а также самцов-производителей.

Возбудитель болезни – DNA-содержащий вирус (*Adenovirus caninae*) отнесён к обширной группе аденовирусов, роду *Mastadenovirus*. Предположение о вирусной природе болезни впервые высказал Каудри в 30-х гг., а в 1947 г. Рубарт подтвердил её экспериментально. При изучении эпизоотий энцефалита лисиц, которые наблюдались с 1925 г. в течение ряда лет, многими исследователями выделен вирус, который был назван вирусом энцефалита лисиц. В настоящее время он известен как аденовирус собак типа 1 (CAV-1).

Вирус CAV-2 был впервые изолирован от группы собак при вспышке ларинготрахеита (кашля в питомнике) и был определён как один из этиологических агентов этой болезни. Аденовирус собак CAV-2 перекрёстно нейтрализуется антисывороткой CAV-1. Вирус однороден в иммунобиологическом отношении [6].

Вирус ИГС устойчив к физико-химическим факторам. При замораживании, высушивании и хранении в 50%-ном растворе глицерина он не теряет своих свойств 3–5 лет. При температуре 37°C сохраняется до 29 дней, при комнатной температуре – 10–13 недель, при температуре 4°C – более 9 месяцев. Высокая температура действует на вирус губительно. Он теряет вирулентность при нагревании до 100°C за 1 минуту. Вирус неустойчив к формалину, лизолу, фенолу, свежегашёной извести, эти средства инактивируют его в течение 30 мин. Проявляет выраженную устойчивость к эфиру, хлороформу, метанолу, антибиотикам и УФ лучам.

На волосах на коже способность его колеблется в широких пределах в зависимости от температуры окружающего воздуха. Так, при температуре 17°C вирус инактивировался в интервале между 22–30 днями, при температуре 0–2°C – между 168–184 днями и при температуре 1–8°C – между 246–263 днями. Его выделяли с волосах на коже собак во время клинического проявления болезни и спустя 35 дней после переболевания [5].

Вирус индуцирует образование ви-

руснейтрализующих, комплементсвязывающих, преципитирующих и антигемагглютинирующих антител.

Инфекционный гепатит собак представляет серьезную угрозу для служебного собаководства и индивидуальных владельцев собак, а также потенциальную опасность для пушного звероводства. Вопросы эпизоотологии, клинико-морфологического проявления, диагностики и профилактики указанного заболевания достаточно изучены [1–10]. Однако со стороны государственной ветеринарной службы Республики Беларусь этому заболеванию уделяется недостаточное внимание, не ведется его официальная статистика, в республике не производятся диагностикумы и вакцины.

В зарубежных странах такие препараты разработаны и производятся. Для активной специфической профилактики используют ассоциированные вакцины: Био-вак-DPAL, Пентавак, Гексаканивак, Три-вирикан и др. Из зарубежных ассоциированных вакцин применяют Бивировакс, Тривировакс, Гексадог (Франция), Вангард-5, 7 (США) и др. Закупкой и реализацией их в нашей стране в ограниченных масштабах занимаются частные ветеринарные клиники и аптеки, что значительно удорожает стоимость препаратов, объемы и эффективность их применения, а также требуются затраты валютных средств.

Поэтому разработка и налаживание производства отечественных диагностикумов и вакцин против инфекционного гепатита собак является важной практической задачей.

Целью наших исследований было конструирование жидкой культуральной инактивированной сорбированной вакцины против инфекционного гепатита собак и разработке рациональной технологии ее производства.

Для реализации указанной цели решались следующие задачи: изыскание рациональных способов получения вирусного сырья для изготовления вакцины; отработка методов и режимов инаktivации виру-

са; определение оптимальной концентрации гидроксала в вакцине; конструирование вакцины и изучение ее безвредности, стерильности, и иммуногенности; изучение срока годности вакцины; разработка ТНПА на вакцину.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на нелинейных белых мышах, кроликах породы Шиншилла, преимущественно самцах, массой 2–3 кг и серонегативных собаках различных пород массой 10–15 кг в условиях вивария РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», вивария УО Белорусский государственный медицинский университет, приюте для безнадзорных животных г.Минска «Фауна города», горветстанциях республики.

В работе использовали вирус инфекционного гепатита плотоядных штамм КМИЭВ-83, который селекционирован из выделенного эпизоотического штамма от больной инфекционным гепатитом собаки, и адаптирован к перевиваемой культуре клеток MDCK. Указанную культуру клеток использовали для накопления вирусного сырья при производстве вакцины.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Получение вирусного сырья для изготовления вакцины. Культивирование вируса для изготовления вакцины проводили роллер-

ным в 2-литровых роллерах или статическим в 1,5-литровых матрасах способами при температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Скорость вращения роллеров от 12 до 28 об/мин. В качестве питательной среды использовали среды Игла или Игла MEM с добавлением 2; 5 или 10% сыворотки крупного рогатого скота.

Вирус вносили в питательную среду одновременно с клетками, концентрация которых составляет $0,1\text{--}0,2$ млн/см³. Для культивирования вируса инфекционного гепатита использовали клетки MDCK. Заражающая доза вируса $0,1\text{--}0,3$ ТКИД₅₀/кл.

Контроль состояния зараженного клеточного монослоя осуществляли ежедневно путем просмотра матрасов и роллеров под микроскопом. «Урожай» собирали через 3–4 суток культивирования. С целью разрушения клеток и высвобождения вирусных частиц в культуральную жидкость матрасы и роллеры замораживали при минус $18\text{--}20^{\circ}\text{C}$ в течение 18 и более часов. Нарботанный вирусный материал проверяли на титр вируса, бактериальную и грибковую контаминацию по общепринятым методикам. Весь вирусный материал был стерильным в отношении бактериальной и грибковой флоры. Наибольшее накопление вируса происходило при роллерном способе культивирования по сравнению со статическим (таблица 1).

Таблица 1 – Накопление вакцинного вируса инфекционного гепатита плотоядных при различных способах культивирования

Наименование вируса	Наименование культур клеток	Титр вируса при культивировании, lg	
		роллерным способом	в статических условиях
вирус инфекционного гепатита	MDCK	$4,5\pm 0,1$	$5,0\pm 0,1$

Примечание – титр вируса указан в ТЦД₅₀/см³; данные приведены по 3-м повторностям

Как видно из таблицы 1, наиболее высокое накопление вируса происходило при роллерном способе выращивания. Титр вируса при этом составил $5,0\pm 0,1$ или на $0,5$ lg выше, чем при стационарном способе культивирования.

Отработка метода инактивации вируса. Инактивацию вируса проводили теотропином, который добавляли к нему до конечной концентрации 0,05; 0,1 и 0,15% и выдерживали в термостате при температуре 37°C , периодически перемешивая. Через

0, 12, 24 и 36 часов отбирали пробы материала и тестировали на инфекционную активность путем заражения культуры клеток МДСК. Опыт проводили в 3-х повторностях.

В результате было установлено, что

теотропин в концентрации 0,1 и 0,15% через 24 и 36 часов при температуре 37°C полностью инактивировал вирус. В меньшей концентрации и в более короткие сроки препарат лишь снижал титр вируса (таблица 2).

Таблица 2 – Биологическая активность вируса инфекционного гепатита плотоядных после инактивации теотропином

№ п/п	Концентрация теотропина, %	Титр вируса до инактивации	Время инактивации, часов	Титр вируса после инактивации
1	0,05	4,5±0,2	12	4,4±0,2
2	0,1	4,5±0,2		4,0±0,2
3	0,15	4,5±0,2		3,4±0,2
4	0,05	5,0±0,2	24	2,5±0,2
5	0,1	5,0±0,2		0
6	0,15	5,0±0,2		0
7	0,05	5,0±0,1	36	1,5±0,1
8	0,1	5,0±0,1		0
9	0,15	5,0±0,1		0

Примечание – титры вируса указаны в lg

В дальнейшей своей работе для инактивации вакцинного вируса мы использовали интервал 24 часа и 0,15%-ную концентрацию теотропина, как более полную гарантирующую результат.

Определение оптимальной концентрации геля гидроокиси алюминия (гидроксала) для конструирования вакцины. С целью определения оптимальной концентрации гидроксала для конструирования вакцины в культуральную жидкость вируса инфекционного гепатита добавляли его в концентрации 5 и 10%. Затем смесь виру-

са с различной концентрацией гидроксала выдерживали, помешивая, в течение 18 часов в холодильнике при температуре 4°C и центрифугировали при 4000 об/мин. в течение 20 минут. Надосадочную жидкость вируса титровали на культуре клеток МДСК. С целью контроля титрации одновременно подвергали и исходный вирус без добавления гидроксала. Оптимальной считалась та концентрация гидроксала, при которой он максимально сорбировал вирус. Опыт проводили в 3 повторностях (таблица 3).

Таблица 3 – Титры вируса инфекционного гепатита плотоядных в надосадочной жидкости после его сорбции гидроксалом

№ п/п	Количество гидроксала в смеси с вирусом, об.%	Время сорбции, часы	Температура сорбции, °C	Титры вируса в надосадочной жидкости
1	5	18	4	4,5±0,2
2	10	18	4	2,0±0,2
3	Без гидроксала	–	–	5,0±0,2

Примечание – титры вируса указаны в lg

Как видно из таблицы 3, оптимальной концентрацией гидроксала для сорбции вируса является 10 об.%. Титр вируса при этом в надосадочной жидкости по сравнению с контролем снижался на 2,5 lg.

В дальнейшем указанная концентра-

ция гидроксала использовалась нами при изготовлении экспериментального образца вакцины.

Конструирование экспериментального образца вакцины и изучение ее стерильности, безвредности иммуногенности.

Для конструирования вакцины использовали вирус инфекционного гепатита плотоядных штамм КМИЭВ-83 с титром $4,5 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ с добавлением 10 об.% гидроксала. Культивировали вирус в клетках MDCK роилерным способом. Инактивацию проводили теотропином в 0,15%-ной концентрации при температуре 37°C и экспозиции 24 часа. Полноту инактивации определяли путем заражения культуры клеток MDCK. Гидроксал вносили после инактивации вируса.

Бактериальную и грибковую стерильность определяли путем высева вакцины на МПА, МПБ, МППБ, агар Сабура, безвредность – путем подкожного введения по $0,5 \text{ см}^3$ вакцины 10-ти белым мышам живой массой 18–20 г. Срок наблюдения 10 суток. О результатах судили по отсутствию роста микроорганизмов и выживаемости животных.

В результате вакцина при подкожном введении белым мышам в течение 10 дней наблюдения не вызвала их заболевания и гибели, что свидетельствует о ее безвред-

ности.

В посевах вакцины на питательных средах по истечении 10 суток рост бактерий и грибов отсутствовал, что свидетельствует о бактериальной и грибковой ее стерильности.

Подбор оптимальной дозы и иммуногенную активность вакцины изучали в опыте на 12 кроликах массой 2,0–2,5 кг. Животные были разделены на четыре группы, по 3 животных в каждой. Животным первой группы была введена сконструированная вакцина в объеме $0,5 \text{ см}^3$, второй – по $1,0 \text{ см}^3$ и кроликам 3 группы – по $2,0 \text{ см}^3$ вакцины. Четвертая группа кроликов, вакцинированных по $2,0 \text{ см}^3$ вакцины «Мультикан-8», служила контролем. Препараты вводили дважды с интервалом 21 день.

Через 14 дней после вакцинации сыворотки крови животных были исследованы на титры антител против инфекционного гепатита плотоядных в РН на культуре клеток MDCK. Результаты исследования титров антител приведены в таблица 4.

Таблица 4 – Титры специфических антител у кроликов, вакцинированных различными дозами жидкой культуральной инактивированной сорбированной вакцины против инфекционного гепатита плотоядных

№ п/п	Группы животных	Объем, см^3	Кол-во животных	Титры антител
1	первая	$0,5+0,5$	3	$6,0\pm 1,0$
2	вторая	$1,0+1,0$	3	$7,0\pm 1,0$
3	третья	$2,0+2,0$	3	$8,0\pm 1,0$
4	контроль (вакцина «Мультикан-8»)	$2,0+2,0$	3	$7,0\pm 1,0$

Как видно из таблицы 4, у кроликов, вакцинированных сконструированной вакциной, титры антител к вирусу инфекционного гепатита на 14 день после иммунизации были относительно высокими, как и у кроликов, вакцинированных вакциной российского производства «Мультикан-8». Наиболее высокими были титры антител у животных при введении вакцины в дозе $2,0 \text{ см}^3$, т.е. указанная доза была наиболее эффективной.

Все кролики в течение 40 дней после вакцинации оставались клинически здоровыми, местные реакции в месте введения

вакцины отсутствовали. Проверка иммунологической эффективности экспериментального образца конструируемой вакцины проведена также в комиссионном опыте на собаках. С этой целью 10 собак были разделены на 2 группы, по 5 голов в каждой. Животные первой группы были вакцинированы экспериментальным образцом вакцины двукратно по $2,0 \text{ см}^3$ с интервалом 21 день. Животные второй группы, для контроля, по такой же схеме вакцинированы вакциной «Мультикан-8». Вакцины вводили внутримышечно в области бедра или подкожно за лопаткой. Наблюдение за жи-

вотными осуществляли в течение 40 дней с оценкой общего состояния и с выборочным измерением температуры. Через 14 дней после вакцинации у животных были отобраны пробы крови для определения титров антител. Об иммунологической эффективности вакцины судили по титрам специ-

фических антител у вакцинированных животных.

Результаты определения иммунологической эффективности сконструированного экспериментального образца вакцины представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Титры специфических антител против вируса инфекционного гепатита плотоядных у собак, вакцинированных сконструированной вакциной

№ группы	Вакцина	Доза, см ³	Титры антител (log ₂) через 14 дней после вакцинации
1	сконструированная	2,0±2,0	6,0±1,0
2	Мультикан-8	2,0±2,0	6,0±1,0

Как видно из таблицы, у животных, привитых сконструированной вакциной, титры антител к вирусу инфекционного гепатита плотоядных на 14 день после вакцинации были относительно высокими и не отличались от титров антител у животных, вакцинированных вакциной «Мультикан-8». Все собаки в течение 40 дней после вакцинации оставались клинически здоровыми, местные реакции в месте введения вакцин отсутствовали. Следовательно, сконструированная вакцина является стерильным, безвредным и иммуногенным препаратом, не уступающим по эффективности российской вакцине «Мультикан-8».

Для установления срока годности сконструированной вакцины общая проба из 3-х ее серий была проверена на иммуно-

генную активность, бактериальную и грибковую стерильность и безвредность через 6, 12 и 18 месяцев хранения при температуре 4–8°C. Исследования проводились по общепринятым методикам. Титры антител к вирусу гепатита определяли у 3 кроликов, вакцинированных сконструированной вакциной с различным сроком хранения внутримышечно в дозе 2,0 см³, двукратно с интервалом 21 день. При этом установлено, что вакцина оставалась стерильной и безвредной в течение 18 месяцев. Однако иммуногенная активность ее после 18-месячного срока хранения незначительно снижалась. Поэтому в условиях хранения при 4–8°C оптимальным сроком годности вакцины следует считать 18 месяцев с момента изготовления (таблица 6).

Таблица 6 – Биологическая активность, стерильность и безвредность жидкой культуральной инактивированной сорбированной вакцины против инфекционного гепатита плотоядных через различные сроки хранения (n=3)

№ п/п	Показатели	Сроки хранения (месяцев) и титры антител (log ₂)		
		6	12	18
1	Иммуногенная активность	6±1	5±1*	5±1
2	Стерильность	+	+	+
3	Безвредность	+	+	+

Примечание – «+» – положительный результат; *P < 0,01

По результатам проведенных исследований была изготовлена промышленная партия вакцины. Производственные испытания иммунологической и противоэпизоотической эффективности ее проводились на 810 собаках в ГУ «Фауна города» и на 1090 собаках в райветстанциях Молодеченского

и Воложинского районов Минской области, неблагополучных по бешенству, чуме, парвовирусному энтериту и инфекционному гепатиту плотоядных животных.

Вакцина вводилась внутримышечно в области бедра или подкожно в области шеи в дозе по 2,0 см³ двукратно с интервалом

20–21 день. За привитыми животными в течение двух недель было установлено патронажное наблюдение.

За это время случаев падежа, каких-либо осложнений или местных реакций, потери аппетита не зарегистрировано.

ВЫВОДЫ

1 Сконструированная вакцина жидкая культуральная инактивированная сорбированная против инфекционного гепатита собак является безвредным, стерильным и высокоиммуногенным препаратом, который по своей иммунологической эффективности не уступает коммерческой вакцине зарубежного производства и рекомендуется для внедрения в практику.

2 При двукратной, с интервалом 14–21 день, иммунизации кроликов и собак указанной вакциной в объеме по 2,0 см³ через 14 сут. после повторной иммунизации животные имели аналогичные титры антител (6,0±1), как и при иммунизации коммерческой вакциной «Мультикан-8» (6,0±1).

3 Сконструированная вакцина в качестве вирусосодержащего материала включает вирус инфекционного гепатита собак КМИЭВ-83 в титре 4,5±0,2 lg, выращенный в культуре клеток MDCK, в качестве инактиватора вируса – теотропин в 0,15 %-ной концентрации, в качестве адъюванта – гид-

роксал в концентрации 10 об. %.

4 Способ изготовления вакцины включает репродукцию вируса, его инактивацию, сорбцию и конструирование вакцины.

5 Вирус репродуцируют в культуре клеток MDCK со средой Игла и 5%-ми сыворотками КРС в статических условиях в 1,5-литровых матрасах или в 2-литровых роллерных флаконах при температуре 37°C. Заражающая доза вируса составляла 0,1–0,3 ТЦД_{50/кл.} «Урожай» собирают через 3–4 сут. культивирования после предварительного замораживания и оттаивания матрасов и флаконов.

6 Вирусное сырье инактивируют теотропином в 0,15 %-ной концентрации в течение 24 ч при температуре 37°C и добавляют гидроксал до конечной концентрации 10 об. %.

7 Хранение при температуре 4–8°C обеспечивает годность вакцины в течение 18 месяцев со дня изготовления.

8 На вакцину жидкую культуральную инактивированную сорбированную против инфекционного гепатита собак разработаны ТНПА (ТУ, опытно-промышленный регламент, инструкция по применению).

9 Разработанная вакцина одобрена ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр» и рекомендована к производству.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Белов, А.Д. *Болезни собак* / А.Д. Белов [и др.] М., Агропромиздат, 1990. – 368с.
- 2 Госманов, Р.Г. *Ветеринарная вирусология* [Текст]: учебник / Р.Г. Госманов, Н.М. Колычев; под редакцией. Т.С. Молочаева. – М.: Колос, 2006. – С. 162–164.
- 3 Ковалев, Н.А. *Клинико-морфологическое проявление и профилактика инфекционного гепатита собак* / Н.А. Ковалев [и др.] // *Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария*. – 2011. – №3. – С. 3–8.
- 4 Осидзе, Д.Ф. *Инфекционные болезни животных: справочник*. / Д.Ф. Осидзе // М.: ВО «Агропромиздат», 1987. – 288с.
- 5 Сюрин, В.Н. *Вирусные болезни животных* / В.Н. Сюрин [и др.] М., ВНИТИБП, 1998. – 928с.
- 6 Фомина, Н.В. *Аденовирусные инфекции животных* / Н.В. Фомина // М, Колос, 1995. В 2-х т. Т.2. – 193 с.
- 7 Шуляк, Б.Ф. *Вирусные инфекции собак* / Б.Ф. Шуляк. – М.: «Олита», 2004. – 568с.
- 8 *Инфекционный (вирусный) гепатит собак* [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.moksyakova.ru/infektsionnyie-bolezni-sobak/infektsionnyiy-gepatit-sobak.html>. – 20.12.2015 г.
- 9 *Инфекционный гепатит плотоядных (ИГС)* [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://rostovvet.ru/price/infectious-hepatitis-carnivores/> – 20.12.2015 г.
- 10 *Инфекционный гепатит собак* [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://vetvo.ru/infektsionnyj-gepatit-u-sobak.html>. – 20.12.2015 г.

УДК 619:615.28:614.48

Каменская Т.Н., кандидат ветеринарных наук
 Лукьянчик С.А., кандидат сельскохозяйственных наук
 Хендогина О.В., старший научный сотрудник
 Кривенок Л.Л., младший научный сотрудник

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

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ И ВЛИЯНИЕ СРЕДСТВА ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО «ПЕРОКСИН-ПЛЮС» НА ПРОДУКТЫ УБОЯ ЖИВОТНЫХ ПРИ ЕГО ПРИМЕНЕНИИ В МАКСИМАЛЬНО ИСПОЛЬЗУЕМЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ

Резюме

В статье сообщается о воздействии средства дезинфицирующего «Пероксин Плюс» на тест-микробы и влияние на качественные показатели мяса при применении средства в присутствии животных.

Summary

The article reports on the effects of disinfectants «Peroxin Plus» on the test germs and the effect on meat quality parameters in the application of funds in the presence of animals.

Поступила в редакцию 09.03.2016 г.

ВВЕДЕНИЕ

На базе ИП «ИНКРАСЛАВ» РБ разработано и внедрено новое дезинфицирующее средство «Пероксин плюс». Средство представляет собой однородную прозрачную или слегка опалесцирующую жидкость от бесцветной до желтого цвета со слабым специфическим запахом. В состав средства в качестве активнорвствующих веществ входят полигексаметиленгуанидин (ПГМГ) гидрохлорид, перекись водорода, ингибитор коррозии, моющий комплекс, стабилизатор и другие функциональные добавки. Гарантированный срок годности в невскрытой упаковке производителя средства – 1 год. Средство имеет хорошие моющие свойства, не фиксирует органические загрязнения на обрабатываемых поверхностях и инструментах, экологически безопасно. По степени воздействия на организм при введении в желудок относится к 3 классу умеренно опасных веществ, при нанесении на кожу – к 4 классу малоопасных веществ по ГОСТ 12.1.007-76 [2]. В виде паров при ингаляции средство малоопасное, не оказывает кожно-резорбтивного и сенсибилизирующего действия.

щего действия.

Нами была изучена антимикробная активность и влияние средства дезинфицирующего «Пероксин плюс» на продукты убоя животных при его применении в максимально используемых концентрациях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Антимикробную, антигрибковую и противомикобактериальную активность испытуемого образца средства дезинфицирующего «Пероксин Плюс» изучали согласно СанПиН 21-112-99 «Нормативные показатели безопасности эффективности дезинфекционных средств» [5], а также Временной инструкции «Методы испытания противомикробной активности дезинфицирующих средств» № 47/18т от 24.12.98 г; Инструкции по применению № 11-20-204-2003 «Методы проверки и оценки антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств» [4] с использованием тест-культур *E.coli* (штамм ATCC 11229), *Staphylococcus aureus* (штамм ATCC 6538), *B.subtilis* ATCC 6633 и *Candida albicans* (штамм ATCC 10231); культуры *Mycobacterium terrae* ATCC 15755.

Испытания проводились при температуре воздуха 20–22°C, относительной влажности 70–78 %. Для установления влияния белковой нагрузки на уровень антимикробной активности использовалась лошадиная сыворотка 20 % концентрации. Для посевов культур использовали среды Эндо, МПА, солевой агар, Сабуро и среду Гильберга.

Для измерения мутности суспензии бактерий использовали денситометр DEN-1, так количество тест-суспензии в среднем составляло $1,1 \times 10^9$ клеток/мл.

Для работы с культурами *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *B. subtilis* были отобраны концентрации препарата 0,2, 0,3 % (экспозиция 90 минут) 0,5 % (экспозиция 30 минут) и 1,0 % (экспозиция 15 минут), с культурой *Candida albicans* в концентрации 1,5 % (экспозиция 30 минут) и 2,0 % (экспозиция 15 минут) и культурой *M. terra* в концентрации 1,5 % (экспозиция 60 минут), 2,0 % (экспозиция 30 минут), 2,5 % (экспозиция 15 минут). После соответствующих экспозиций и концентраций препарата с культурами и последующей нейтрализации дезинфектанта проводили посев на соответствующие среды (на каждую концентрацию по 2 пробирки) и помещали в термостат.

Для проведения опыта по изучению влияния обработок средством дезинфицирующим «Пероксин Плюс» на виварии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» было подобрано два бокса, где содержали опытную и контрольную группы кроликов.

Животных опытной группы подвергали аэрозольной обработке методом холодного тумана 2,5 % рабочим раствором средства ежедневно в течение 20 дней, расход препарата – $10 \text{ см}^3/\text{м}^3$. В группе контрольных животных аэрозольная дезинфекция не проводилась. По окончании опыта кролики были подвергнуты убою и проведена ветеринарно-санитарная экспертиза туш и органов животных, находившихся в опыте, согласно общепринятым методикам.

Оценку качества мяса кроликов проводили согласно ГОСТ 20235.0-74 и ГОСТ 20235.2-74 ГОСТ 7269-79 «Мясо кроликов. Методы анализа» [1] и «Правилам ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов». В мясе определяли содержание полипептидов и других продуктов распада белков реакцией с сернокислой медью, концентрацию водородных ионов (рН) – иономером, количество аминокислот – методом титрования. Готовили мазки-отпечатки из глубоких слоев мышц, окрашивали по Граму и микроскопировали. Биологическую ценность и безвредность мяса кроликов, находившихся в опыте, исследовали согласно «Методическим указаниям по токсико-биологической оценке мяса, мясных продуктов и молока с использованием инфузорий тетрахимена-пириформис» (утв. ГУВМСХПРБ, 1997г.) [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ ССЛЕДОВАНИЙ

На первом этапе нами была изучена антимикробная активность дезинфицирующего средства «Пероксин Плюс». В опыте по изучению антимикробной активности средства дезинфицирующего «Пероксин Плюс» в количественном суспензионном методе в испытанных режимах установлено, что при обработке данным средством в концентрации 0,2, 0,3, 0,5, 1,0 % и соответствующих экспозициях все испытываемые тест-культуры были чувствительны как с белковой, так и без белковой нагрузки, фактор редукции был выше 5 (таблица 1).

При испытаниях антимикробной активности средства дезинфицирующего «Пероксин Плюс» в количественном суспензионном методе с белковой нагрузкой и без нее по отношению к тест-культуре *C. albicans* с микробной нагрузкой 10^9 КОЕ/мл в концентрациях 1,5 и 2,0 % и экспозиции соответственно 30 и 15 минут установлено, что в изучаемых концентрациях и соответствующих экспозициях средство оказывало воздействие на тест культуру *C. albicans* (таблица 2).

САНИТАРИЯ

Таблица 1 – Антимикробная активность средства дезинфицирующего «Пероксин Плюс» к тест-культурам

Тест-культура	Концентрация рабочего раствора, %	log	RF
экспозиция 90 минут			
<i>E.coli</i>	0,2	2,38	5,07
	контроль	7,45	
	0,2 + л.с.	2,34	5,00
	контроль с л.с.	7,34	
<i>S.aureus</i>	0,2	2,17	5,47
	контроль	7,64	
	0,2 + л.с.	2,26	5,04
	контроль с л.с.	7,30	
<i>B.subtilis</i>	0,2	2,76	5,10
	контроль	7,86	
	0,2 + л.с.	2,58	5,01
	контроль с л.с.	7,59	
<i>E.coli</i>	0,3	2,26	5,40
	контроль	7,66	
	0,3 + л.с.	2,17	5,17
	контроль с л.с.	7,34	
<i>S.aureus</i>	0,3	2,48	5,20
	контроль	7,68	
	0,3 + л.с.	2,58	5,03
	контроль с л.с.	7,61	
<i>B.subtilis</i>	0,3	2,48	5,16
	контроль	7,64	
	0,3 + л.с.	2,71	5,08
	контроль с л.с.	7,79	
экспозиция 30 минут			
<i>E.coli</i>	0,5	2,51	5,32
	контроль	7,83	
	0,5 + л.с.	2,51	5,32
	контроль с л.с.	7,83	
<i>S.aureus</i>	0,5	3,26	5,35
	контроль	8,61	
	0,5 + л.с.	2,36	5,07
	контроль с л.с.	7,43	
<i>B.subtilis</i>	0,5	2,18	5,12
	контроль	7,30	
	0,5 + л.с.	2,30	5,02
	контроль с л.с.	7,32	
экспозиция 15 минут			
<i>E.coli</i>	1,0	2,08	6,44
	контроль	8,52	
	1,0 + л.с.	2,15	6,41
	Контроль с л.с.	8,56	
<i>S.aureus</i>	1,0	2,15	5,64
	контроль	7,79	
	1,0 + л.с.	2,38	5,43
	контроль с л.с.	7,81	
<i>B.subtilis</i>	1,0	2,34	5,21
	контроль	7,55	
	1,0 + л.с.	2,38	5,20
	контроль с л.с.	7,58	

Примечание –л.с. – лошадиная сыворотка

Таблица 2 – Антимикробная активность средства дезинфицирующего «Пероксин Плюс» к тест культуре *Candida albicans*

Тест-культура	Концентрация рабочего раствора, %	log	RF
экспозиция 30 минут			
<i>C.albicans</i>	1,5	2,34	5,11
	контроль	7,45	
	1,5 + л.с.	2,54	5,06
	контроль с л.с.	7,60	
экспозиция 15 минут			
<i>C.albicans</i>	2,0	2,49	5,03
	контроль	7,52	
	2,0 + л.с.	2,45	5,16
	контроль с л.с.	7,61	

Примечание – л.с. – лошадиная сыворотка (белковая нагрузка)

В таблице 3 представлены результаты по антимикобактериальной активности средства дезинфицирующего «Пероксин Плюс». При культивировании культуры *M. terrae* установлено, что во всех исследуе-

мых концентрациях с белковой нагрузкой и без нее средство обладает высоким уровнем антимикобактериальной активности (фактор редукции числа бактерий в опыте по сравнению с контролем не ниже 5).

Таблица 3 – Антимикобактериальная активность средства дезинфицирующего «Пероксин Плюс» к культуре *Mycobacterium terrae*, экспозиция 30 минут

Тест-культура	Концентрация рабочего раствора, %	log	RF
экспозиция 60 минут			
<i>M.terra</i>	1,5	2,53	5,15
	контроль	7,68	
	1,5 + л.с.	2,34	5,06
	контроль с л.с.	7,40	
экспозиция 30 минут			
<i>M.terra</i>	2,0	2,56	5,14
	контроль	7,70	
	2,0 + л.с.	2,45	5,04
	контроль с л.с.	7,49	
экспозиция 15 минут			
<i>M.terra</i>	2,5	2,64	5,08
	контроль	7,72	
	2,5 + л.с.	2,48	5,06
	контроль с л.с.	7,54	

Примечание – л.с. – лошадиная сыворотка

На втором этапе определяли качественные показатели продуктов животноводства при применении средства дезинфицирующего «Пероксин Плюс».

При проведении ветеринарно-санитарной экспертизы мяса кроликов, подвергнутых обработке средством дезинфицирующим «Пероксин Плюс», установлено, что при внешнем осмотре туш и внутренних паренхиматозных органов подопытных животных видимых патологических изменений не обнаружено. Тушки хорошо обескровлены, суставные поверхности и сухожилия влажные, плотные, упругие, гладкие. Мышцы на разрезе слегка влажные, не липкие; после надавливания на мясо ямка быстро выравнивалась, что свидетельствовало об его упругой консистенции.

Запах поверхностного слоя туш опытной и контрольной групп специфический для данного вида животных (кролики), характерный для свежего мяса, цвет мяса – бледнорозовый. При микроскопии мазков-отпечатков с поверхности мяса в поле зрения обнаружены единичные кокки, палочковидных форм микроорганизмов и следов распада мышечной ткани не выявлено.

В таблице 4 представлены данные по качественным показателям мяса кроликов. Как видно из таблицы, достоверных различий в физико-химических показателях мяса обеих групп не установлено. Концентрация водородных ионов находилась в допустимых пределах для созревшего свежего мяса, что способствовало хорошему санитарному его состоянию.

Таблица 4 – Физико-химические показатели мяса кроликов в опыте по использованию средства дезинфицирующего «Пероксин Плюс»

Показатель	Срок хранения при 2 ⁰ С, ч	Группа	
		контрольная	опытная
реакция среды, рН единиц	24	5,98±0,03	5,85±0,02
реакция с р-ром CuSO ₄	24	3-	3-
реакция на аммиак	24	3-	3-
ЛЖК, мг КОН	24	2,20±0,02	2,15±0,07
ААА, мг КОН	24	0,95±0,02	0,85±0,04

Примечание – (-) – реакция отрицательная; ЛЖК – летучие жирные кислоты; ААА – аминокислотный азот

При изучении безвредности образцов мяса кроликов подопытных групп на тест-организмах инфузориях тетрахимена пиримис отклонений в морфологической структуре, характере движения, росте и развитии простейших не наблюдалось, что говорит о безвредности изучаемого продукта.

Относительная биологическая ценность мяса кроликов отражена в таблице 5. Средние данные по относительной биологической ценности опытных образцов мяса, печени и почек имели тенденцию к повышению по сравнению с контрольными образцами.

Таблица 5 – Относительная биологическая ценность и безвредность мяса, печени и почек кроликов, находившихся в опыте с использованием средства дезинфицирующего «Пероксин-плюс»

Группа	мясо		печень		почки	
	количество клеток	%	количество клеток	%	количество клеток	%
опытная	217	103,8	489	102,1	588	102,8
контрольная	209	100,0	479	100,0	572	100,0

ВЫВОДЫ

1 Согласно «Ветеринарно-санитарным правилам по проведению ветеринарной дезинфекции» (Минск 2007), а также Методическим указаниям по контролю качества дезинфекции и санитарной обработки объектов, подлежащих ветеринарно-санитарному надзору» (Минск 2007) средство дезинфицирующее «Пероксин Плюс» оказывает воздействие на 1, 2 и 3 группу микроорганизмов по устойчивости к дезинфектантам.

2 По физико-химическим и бактериологическим показателям мясо кроликов, находившихся в опыте, соответствовало доброкачественному продукту. Продукты убоя животных, находившихся в опыте по использованию средства дезин-

фицирующего «Пероксин Плюс», являются безвредными для тест-организмов инфузорий Тетрахимена пириформис. Отклонений в морфологической структуре, характере движения, росте и развитии простейших не наблюдалось. Относительная биологическая ценность мяса, печени и почек образцов опытных групп была соответственно выше на 3,8, 2,1 и 2,8 %, чем в контрольных образцах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Средство дезинфицирующее «Пероксин Плюс» производства ИП «ИНКРА-СЛАВ» РБ согласно проведенным исследованиям может быть рекомендовано для применения в ветеринарной практике.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 ГОСТ 20235.0-74 – ГОСТ 20235.2-74 «Мясо кроликов. Методы анализа».
- 2 ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.
- 3 «Методические указания по токсико-биологической оценке мяса, мясных продуктов и молока с использованием инфузорий тетрахимена-пириформис», утв. ГУВ МСХП РБ 28.10.1997/ Витебск, 1997.– 13 с.
- 4 «Методы проверки и оценки антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств»/ Инструкция по применению № 11-20-204-2003.
- 5 СанПиН 21-112-99 «Нормативные показатели безопасности эффективности дезинфекционных средств».

УДК 619.614.31:637.5'64(045)

Каменская Т.Н., кандидат ветеринарных наук
 Лукьянчик С.А., кандидат сельскохозяйственных наук
 Хендогина О.В., старший научный сотрудник

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

КАЧЕСТВЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЯСА БЫЧКОВ, ПОЛУЧАВШИХ СИЛОС С КОНСЕРВАНТОМ-ОБОГАТИТЕЛЕМ НА ОСНОВЕ ТОРФА

Резюме

В статье сообщается о качественных показателях мяса бычков, получавших силос с консервантом-обогабителем.

Summary

The article reports on the quality indicators of meat calves received silage with preservative-dressing.

Поступила в редакцию 09.03.2016 г.

ВВЕДЕНИЕ

Современное животноводство рентабельно при высокой продуктивности животных, сохранении их здоровья в течение времени интенсивности продукционных процессов.

Для успешного ведения животноводства необходимо точно выполнять правила сбалансированного кормления животных. Концентрация питательных и биологически активных веществ в рационе и их соотношение между собой должны соответствовать массе животного, уровню продуктивности, параметрам окружающей среды и способу содержания [7].

Климатические условия нашей республики не позволяют обеспечивать животных свежим зеленым кормом круглый год, поэтому создание достаточных запасов кормов на стойловый период путем консервирования зеленых растений имеет первостепенное значение. Среди различных способов консервирования растительных кормов силосование занимает ведущее место [5].

Для консервирования кормов используются консерванты на основе органических кислот (муравьиная, пропионо-

вая, бензойная). На базе ГНУ «Институт природопользования Национальной Академии наук Беларуси» был разработан экологичный, дешевый консервант-обогабитель силосованных кормов на основе торфа.

Изучение эффективности скармливания силоса с консервантом-обогабителем проводилось сотрудниками РУП «Научно-практический центр НАНБ по животноводству» в условиях ОАО «Александрия-Агро» Каменецкого района Брестской области на молодняке крупного рогатого скота черно-пестрой породы с 6-месячного возраста, средней живой массой 170 кг. Животные I контрольной группы получали с основным рационом силос злаково-бобовый без консерванта-обогапителя, животные II опытной группы – с основным рационом силос злаково-бобовый с консервантом-обогабителем на основе торфа.

Различия в кормлении заключались в том, что молодняку II опытной группы скармливали вместо силоса спонтанного брожения его аналог, заготовленный с использованием консерванта-обогапителя. Период приучения к новому корму составил 3 дня, опытное скармливание силоса

проводилось в течение 60 дней. Корма основного рациона составляли силос кукурузный, заготовленный в фазу восковой спелости зерна по общепринятой технологии, силос с консервантом-обогабителем и без него и комбикорм собственного приготовления, изготовленный в филиале «Николаево» ОАО «Агропродукт» Каменецкого района». При органолептических исследованиях силоса, заготовленного с использованием консерванта-обогапителя установлено, что он имел приятный запах квашеных овощей, без плесени, не мажущейся консистенции, желтовато-зеленого цвета. Структура силоса не нарушена. Реакция среды представленного образца силоса равнялась 4,05 ЕД. Содержание масляной кислоты в продукте не выявлено. По вышеуказанным показателям образец исследуемого силоса соответствовал высшему классу.

После проведения опыта по скармливанию силосов животные, находившиеся в опыте, были подвергнуты убою. В лабораторию экологии и ветеринарной санитарии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» были доставлены образцы проб мяса бычков, получавших силос с консервантом-обогабителем на основе торфа. Сотрудниками лаборатории были изучены качественные показатели и токсичность мяса бычков, получавших силос с консервантом-обогабителем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Органолептические исследования мяса бычков проводили по ГОСТ 7269-79 «Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести» [1], органолептические исследования по показателям внешний вид, вкус, запах, консистенция, сочность, наваристость в мясе и бульоне определяли по ГОСТ 9959-91 «Продукты мясные. Общие условия проведения органолептической оценки» [2].

Оценку качества говядины проводили согласно ГОСТ 23392-78 «Мясо. Методы химического и микроскопического ана-

лиза свежести» [4] и «Правилам ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов». В мясе определяли активность фермента пероксидазы бензидиновой пробой, содержание полипептидов и других продуктов распада белков реакцией с сернокислой медью, концентрацию водородных ионов (рН) – иономером, количество аминокислотного азота и летучих жирных кислот – методом титрования.

Готовили мазки-отпечатки из глубоких слоев мышц, окрашивали по Граму и микроскопировали.

Бактериологические исследования глубоких слоев мышц проводили по ГОСТ 21237-75 «Мясо. Методы бактериологического анализа» [3]. Определяли общую микробную обсемененность мяса, патогенные свойства выделенных культур микроорганизмов исследовали на белых мышах путем биопробы.

Безвредность мяса бычков, находившихся в опыте, исследовали согласно «Методическим указаниям по токсикобиологической оценке мяса, мясных продуктов и молока с использованием инфузорий тетрахимена-пириформис» (утв. ГУВ МСХП РБ, 1997г) [6].

При изучении безвредности учитывали изменения морфологической структуры простейших, характер их движения и наличие мертвых форм через 1, 2, 4, 8 и 24 часа инкубации. Хроническую безвредность определяли по тем же показателям с учетом роста и развития через 96 часов культивирования тест-организмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении мяса бычков, получавших силос злаково-бобовый с консервантом-обогабителем, установлено, что на разрезе оно было слегка влажное, не липкое; после надавливания на мясо ямка быстро выравнивалась, что свидетельствовало об его упругой консистенции. Запах поверхностного и глубоких слоев мяса бычков, получавших силос злаково-бобо-

вый с консервантом-обогадителем, специфический для данного вида животных (крупный рогатый скот), характерный для свежего мяса, светло-красного цвета. Постороннего запаха не зарегистрировано. Проба варкой показала, что бульон прозрачный, ароматный, на поверхности

бульона жир собирался в виде средних капель, наличие посторонних запахов не зарегистрировано.

Дегустационная комиссия сотрудников лаборатории экологии при оценке проб мяса и бульона отрицательных показателей не выявила (таблица 1 и 2).

Таблица 1 – Дегустационная оценка по 9-бальной системе показателей качества бульона

№ образца	Внешний вид, цвет	Запах (аромат)	Вкус	Наваристость	Общая оценка качества, баллы
опытная группа					
1	очень хороший (8)	очень приятный и сильный (9)	вкусный (8)	наваристый (8)	8,25
2	очень хороший (8)	очень приятный и сильный (9)	вкусный (8)	наваристый (8)	8,25
3	очень хороший (8)	очень приятный и сильный (9)	вкусный (8)	наваристый (8)	8,25
контрольная группа					
1	очень хороший (8)	приятный и сильный (8)	достаточно вкусный (7)	достаточно наваристый (7)	7,50
2	очень хороший (8)	очень приятный и сильный (9)	достаточно вкусный (7)	достаточно наваристый (7)	7,75
3	очень хороший (8)	очень приятный и сильный (9)	вкусный (8)	наваристый (8)	8,25

Таблица 2 – Дегустационная оценка по 9-бальной системе показателей качества мяса

№ образцов	Внешний вид	Запах (аромат)	Вкус	Консистенция (нежность, жесткость)	Сочность	Общая оценка качества, баллы
Опытная группа						
1	очень хороший (8)	приятный и сильный (8)	вкусное (8)	очень нежное (9)	сочное (8)	8,2
2	очень хороший (8)	приятный и сильный (8)	вкусное (8)	очень нежное (9)	сочное (8)	8,2
3	очень хороший (8)	приятный и сильный (8)	вкусное (8)	очень нежное (9)	сочное (8)	8,2
Контрольная группа						
1	очень хороший (8)	приятный и сильный (8)	вкусное (8)	нежное (8)	сочное (8)	8,0
2	очень хороший (8)	приятный и сильный (8)	вкусное (8)	нежное (8)	сочное (8)	8,0
3	очень хороший (8)	приятный и сильный (8)	вкусное (8)	нежное (8)	сочное (8)	8,0

По внешнему виду, цвету, аромату, вкусу и наваристости по 9-бальной системе показателей (ГОСТ 9959-91) качество бульона из мяса опытной группы составило 8,25 баллов, тогда как в контрольных образцах эти показатели были ниже и коле-

бались в пределах 7,50–8,25 баллов. При проведении дегустационной оценки проб мяса опытной группы было отмечено, что по внешнему виду, аромату, вкусу, консистенции и сочности средняя дегустационная оценка выше, чем в контрольных об-

разцах и составляла 8,2 балла по 9-бальной системе показателей качества мяса (ГОСТ 9959-91) против 8,0 баллов в контроле.

В таблице 3 представлены результаты бактериологических исследований мяса из поверхностных слоев.

Таблица 3 – Бактериологические исследования образцов мяса с поверхностного слоя

Группа	Микроскопия		Общая микробная обсемененность, КОЕ/г	Рост микрофлоры				био-проба
	мазки отпечатки	распад тканей		энтеропатогены	кокки	спорообразующие	анаэробы	
опыт	единичные кокки	отсутствует	78,0±1,2	отсутствует	2	отсутствует	отсутствует	не патогенна
контроль	единичные кокки	отсутствует	84,3±0,9	отсутствует	4	отсутствует	отсутствует	не патогенна

Как видно из таблицы 3 в мясе с поверхностных слоев обнаружены единичные кокки (допускается для доброкачественного продукта) как в опытной, так и в контрольной группах, следы распада тканей отсутствуют. Выделенная на солевом агаре кокковая микрофлора из мяса не вызывала гибели белых мышей при постановке биопробы.

Общая микробная обсемененность

мяса опытной группы составляла, в среднем, 78,0±1,2 КОЕ/г, в контроле – 84,3±0,9. При бактериологическом исследовании глубоких мышц подопытных групп обсеменения энтеропатогенными, спорообразующими и анаэробными микроорганизмами не установлено.

Физико-химические показатели мяса отражены в таблице 4.

Таблица 4 – Физико-химические показатели мяса бычков, получавших в составе рациона силос злаково-бобовый с консервантом-обогабителем

№ п/п	pH	Реакция с серно-кислой медью	Реакция на пероксидазу	Аминоам-миачный азот, мг КОН	Летучие жирные кислоты, мг КОН
через 24 часа после убоя					
1	6,08	-	+	1,12	3,59
2	6,06	-	+	1,05	3,37
3	6,02	-	+	1,09	3,81
M±m	6,05±0,02	3-	3+	1,09±0,02	3,59±0,13
через 240 часов после убоя					
1	6,10	-	+	1,18	Не исследовали
2	6,12	-	+	1,14	
3	6,07	-	+	1,16	
M±m	6,10±0,01	3-	3+	1,16±0,01	
через 24 часа после убоя					
4	6,08	-	+	1,15	3,55
5	6,07	-	+	1,14	3,82
6	6,08	-	+	1,20	3,82
M±m	6,08±0,01	3-	3+	1,16±0,02	3,73±0,13
через 240 часов после убоя					
4	6,12	-	+	1,20	Не исследовали
5	6,15	-	+	1,19	
6	6,11	-	+	1,23	
M±m	6,13±0,01	3-	3+	1,21±0,01	

Примечание – (-) – реакция отрицательная; (+) – реакция положительная; 1,2,3 – опытная группа; 4, 5, 6 – контрольная группа

Как видно из таблицы 4, физико-химические показатели исследуемого мяса после созревания через 24 часа существенно не отличались от контрольных образцов, и как в опытной, так и в контрольной группах соответствовали доброкачественному продукту. В течение 240 часов мясо как контрольной, так и опытной групп хорошо сохранялось, наблюдалась выраженная корочка подсыхания.

При изучении безвредности образцов мяса бычков на тест-организмах инфузори-ях тетрахимена пириформис отклонений в

морфологической структуре, характере движения, росте и развитии простейших не наблюдалось как в остром опыте через 1, 2, 4, 8 и 24 часа инкубации, так и в хроническом через 96 часов инкубации.

При изучении относительной биологической ценности установлено, что она была выше на 5,3 % мяса у бычков, получавших силос с консервантом-обогадителем на основе торфа по сравнению с мясом бычков, получавших силос без консерванта-обогадителя (таблица 5).

Таблица 5 – Относительная биологическая ценность мяса бычков, находившихся в опыте по скармливанию силоса консервированный консервантом-обогадителем на основе торфа

№ п/п	Группы	Среднее количество тест-организмов	% к контролю
1	опытная	256	105,3
2	контрольная	243	100

ВЫВОДЫ

1 По физико-химическим и бактериологическим показателям исследуемые образцы мяса бычков, получавших силос злаково-бобовый с консервантом-обогадителем, соответствовали доброкачественному продукту.

2 Исследуемые продукты являлись

безвредными для тест-организмов инфузорий Тетрахимена пириформис. Отклонений в морфологической структуре, характере движения, росте и развитии простейших не наблюдалось.

3 Относительная биологическая ценность мяса бычков опытной группы была выше на 5,3 %.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 ГОСТ 7269-79 «Мясо. Методы отбора образцов и органолептические методы определения свежести».
- 2 ГОСТ 9959-91 «Продукты мясные. Общие условия проведения органолептической оценки».
- 3 ГОСТ 21237-75 «Мясо. Методы бактериологического анализа».
- 4 ГОСТ 23392-78 «Мясо. Методы химического и микроскопического анализа свежести».
- 5 Кузнецов, А.Ф. Гигиена содержания животных: Справочник. 2-е изд., стер.-СПб.: Издательство «Лань», 2004.– 640 с.
- 6 «Методические указания по токсико-биологической оценке мяса, мясных продуктов и молока с использованием инфузорий тетрахимена-пириформис», утв. ГУВ МСХП РБ 28.10.1997/ Витебск, 1997. – 13 с.
- 7 Сбалансированное кормление высокопродуктивных коров (справочное руководство). – Боровск 2013 г. – М.: ЗАО «Новые печатные технологии», 2013.–246 с.