

Учредитель — Учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной медицины»

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

УЧРЕЖДЕНИЯ ОБРАЗОВАНИЯ «ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАК ПОЧЕТА»
ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

Том 51, выпуск 1, часть 1
(январь - июль) 2015 г.

Редакционная коллегия:

Ятусевич А.И. – доктор ветеринарных наук, профессор,
академик РАН (г. Витебск, УО ВГАВМ) (главный редактор);

Белко А.А. – кандидат ветеринарных наук, доцент
(г. Витебск, УО ВГАВМ) (зам. гл. редактора);

Алисейко Е.А. – ответственный секретарь (г. Витебск,
УО ВГАВМ).

Братушкина Е.Л. – кандидат ветеринарных наук, доцент
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Великанов В.В. – кандидат ветеринарных наук, доцент
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Мотузко Н.С. – кандидат биологических наук, доцент
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Бабина М.П. – доктор ветеринарных наук, профессор
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Веремей Э.И. – кандидат ветеринарных наук, профессор
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Дремач Г.Э. – кандидат ветеринарных наук, доцент
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Журба А.В. – кандидат ветеринарных наук, доцент
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Ковалёнок Ю.К. – доктор ветеринарных наук, профессор
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Красочко П.А. – доктор ветеринарных наук, профессор
(г. Минск, РУП «ИЭВ им. С.Н. Вышелесского»);

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

Лукашевич Н.П. – доктор сельскохозяйственных наук,
профессор (г. Витебск, УО ВГАВМ);

Лысенко А.П. – доктор ветеринарных наук, профессор
(г. Минск, РУП «ИЭВ им. С.Н. Вышелесского»);

Максимович В.В. – доктор ветеринарных наук, профессор
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Малашко В.В. – доктор ветеринарных наук, профессор
(г. Гродно, УО ГГАУ);

Медведский В.А. – доктор сельскохозяйственных наук,
профессор (г. Витебск, УО ВГАВМ);

Наумов А.Д. – доктор биологических наук, профессор
(г. Гомель, РУП «Институт радиобиологии НАН Беларуси»);

Прудников В.С. – доктор ветеринарных наук, профессор
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Субботин А.М. – доктор биологических наук, профессор
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Холод В.М. – доктор биологических наук, профессор
(г. Витебск, УО ВГАВМ);

Шейко И.П. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор
(г. Жодино, РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству»);

Ятусевич И.А. – доктор ветеринарных наук, профессор
(г. Витебск, УО ВГАВМ).

Журнал перерегистрирован
Министерством информации
Республики Беларусь
8 февраля 2010 г.,
свидетельство о регистрации № 1227.

Периодичность издания – 2 раза в год.

Индекс по индивидуальной подписке -
00238

Индекс по ведомственной подписке -
002382

**Ответственность за точность
представленных материалов
несут авторы и рецензенты,
за разглашение закрытой
информации - авторы.**

Все статьи рецензируются.

Редакция может публиковать статьи
в авторской редакции,
в порядке обсуждения,
не разделяя точку зрения автора.

**При перепечатке ссылка на журнал
«УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ
УЧРЕЖДЕНИЯ ОБРАЗОВАНИЯ
«ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАК
ПОЧЕТА» ГОСУДАРСТВЕННАЯ
АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ
МЕДИЦИНЫ»
обязательна.**

ISBN 978-985-512-851-0

Адрес редакции: 210026, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. 1-я Доватора, 7/11
Тел. 8 (0212) 37-04-42, 35-99-82 E-mail: rio_vsavm@tut.by

Требования к оформлению статей для публикации в журнале «Ученые записки УО ВГАВМ»

Статья, ее электронный вариант (в виде отдельного файла, названного по имени первого автора), **рецензия на статью и выписка из заседания кафедры (отдела)**, подписанная доктором наук или кандидатом наук по профилю публикации, представляются в редакционно-издательский участок УО ВГАВМ.

Статьи объемом до **4 страниц** (14-16 тысяч знаков с пробелами) оформляются на русском языке, на белой бумаге **формата А4** в редакторе MS Word; **шрифт Arial (размер букв 9 pt, интервал одинарный, стиль обычный)**.

Параметры страницы: левое поле – 30 мм, правое, верхнее и нижнее поля – по 20 мм. На первой строке – УДК. Ниже через пробел название статьи прописными буквами (**жирным шрифтом**) по центру строки, без переноса слов. Ниже через пробел по центру строки (**жирным шрифтом**) – строчными буквами фамилии и инициалы авторов (желательно не более 5-ти). Ниже по центру строки – строчными буквами – название учреждения, город, страна. Ниже светлым курсивом – **аннотация** на русском и английском языках. Далее через пробел, с абзачного отступа в 1,0 см, **ключевые слова** по содержанию статьи (5-10 слов) на русском и английском языках, ниже с абзачного отступа в 1,0 см располагается текст. Статья должна иметь следующие элементы, которые выделяются жирным: **введение; материалы и методы исследований; результаты исследований; заключение** (заключение должно быть завершено четко сформулированными выводами). Ниже через пробел **литература** - жирным курсивом (размер букв 8 pt).

Ниже через пробел **на английском языке** название статьи прописными буквами (**жирным шрифтом**) по центру строки, без переноса слов. Ниже через пробел **на английском языке** по центру строки – строчными буквами **фамилии, имена и отчества авторов полностью**. Ниже по центру строки **на английском языке** – строчными буквами – название учреждения, город, страна. Далее через пробел, с абзачного отступа - адрес электронной почты и корреспондентский почтовый адрес.

Статья должна быть подписана автором (авторами), завизирована заведующим кафедрой, с указанием, что **статья рассмотрена на заседании кафедры**. Ответственность за достоверность приведенных данных, изложение и оформление текста несут авторы. **Статьи не должны содержать грамматических ошибок.**

От одного автора может быть принято не более **двух статей** в личном или коллективном исполнении.

Статьи будут дополнительно рецензироваться. **Редационный совет оставляет за собой право отклонять материалы, которые не соответствуют тематике либо оформлены с нарушением правил.**

Пример оформления:

УДК 619:615.3:616.33-008.3:636.22/.28.053.2

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА ЗАЩИТНОЙ СРЕДЫ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ СПОР ГРИБОВ

***Мирский Д.В., **Савченко О.С., *Тарасевич М.О.**

* УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь,

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

Применение энтероспорина в комплексной терапии больных диспепсией новорожденных телят способствует нормализации гематологических и биохимических показателей, ускоряет сроки выздоровления животных на 3-4 суток и повышает эффективность лечения.

Application of the enterosporin in a complex therapy at newborn calves dyspepsia promotes normalization of hematological and biochemical parameters, accelerates terms of recovery of the animals for 3-4 day and raises efficiency of the treatment.

Ключевые слова: энтероспорин, диспепсия, телята, биохимические показатели, лечение.

Keywords: enterosporin, neuralgia, calves, biochemical parameters, treatment.

Введение. Профилактика желудочно-кишечных болезней приобретает ...

Материалы и методы исследований. Работа выполнена в отделе токсикологии...

Результаты исследований. Для изучения содержания микрофлоры в...

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что...

Литература. 1. Аслонок, Н.И. Пробиотики: теоретические и практические аспекты / Н.И. Малик, А.Н. Панин // Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2. Вавилов, П. П. Новые кормовые культуры / П. П. Вавилов, А.А. Кондратьев. – Москва: Россельхозиздат, 1975.- 351с. 3. Angel, G.A.L. Effect of pregnancy on pre-existing liver disease: physiological changes during pregnancy / G.A.L. Angel.// Ann. Hepatol.- 2006.- Vol. 5, № 1.- P.184–186...

THE EFFECT OF A PROTECTIVE ENVIRONMENT FOR THE SURVIVAL OF THE SPORES

***Mirsky Dmitry Vasilyevich, **Savchenko Olga Sergeevna, *Tarasevich Maria Olegovna**

*«Vitebsk State Medical University», Vitebsk, Republic of Belarus,

**«Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine», Vitebsk, Republic of Belarus

E.mail: Olga12@mail.ru,

Адрес: 210026, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. 1-я Доватора 7/11

НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ ЖИВОТНЫХ

УДК 619:617.5:636.2.053:612.017.1

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ТЕЛЯТ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОМ СПОСОБЕ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ РОСТА РОГОВ В КОМПЛЕКСЕ С РАСТВОРОМ «БЕЛАВИТ»

Анашкин Е.Е., Руколь В.М.

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

На современном этапе наиболее оптимальным решением создания комолых стад является предупреждение роста рогов у телят. Для предупреждения роста рогов у телят мы рекомендуем применять термический способ. После выполнения операций, данный способ приводит к снижению резистентности организма и изменению гематологического статуса. Применение раствора «Белавит» сокращает длительность течения воспалительного процесса, нормализует гематологический статус.

At the present stage the an horns of herds is the most optimum solution of creation the prevention of growth of horns at calfs. For the prevention of growth of horns at calfs we recommend to apply a thermal way. After performance of operations, this way leads to decrease in resistance of an organism and change of the hematologic status. Use of Belavit solution reduces duration of a course of inflammatory process, normalizes the hematologic status.

Ключевые слова: теленок, термокаутер, предупреждение роста рогов, гематологический статус, раствор «Белавит».

Keywords: calf, termokauter, prevention of growth of horns, hematologic status, Belavit solution.

Введение. Агропромышленный комплекс Республики Беларусь является основным источником формирования продовольственных ресурсов, обеспечивает национальную продовольственную безопасность и значительные валютные поступления в экономику страны. В республике на долю продукции животноводства приходится более 60% общего дохода от реализации продукции всего аграрного сектора и 95-97% экспорта сельскохозяйственной продукции. Преобладающими в структуре экспорта являются молочные продукты.

В последнее время активно начали строить и реконструировать помещения под беспривязный способ выгульной и безвыгульной системами круглогодичного содержания коров с использованием доильных залов. Способ и система содержания животных оказывает очень сильное влияние на величину расхода кормов, затрат труда и капиталовложений, а через это и на уровень рентабельности производства. Резкое снижение трудозатрат может быть достигнуто только при использовании беспривязного содержания животных. Анализ эффективности беспривязно-боксового содержания животных показал, что капитальные вложения на одно скотоместо сокращаются на 25%, потребность в технических средствах - на 45%, потребность в электроэнергии - на 45-50%, затраты труда на 100 кг привеса живой массы - на 60% [3, 5]. Обязательным условием в данных хозяйствах является комплектация стада комолыми животными.

Обезроженные животные более спокойные, и поэтому удои повышаются на 10-15%, а телята имеют большие привесы. Важные для костей теленка химические элементы, такие как кальций, фосфор, селен и другие, в период интенсивного роста не будут расходоваться на формирования рогов, а на «построение» скелета. Растущему организму животных необходимо систематическое поступление оптимального количества минеральных веществ и витаминов, так как они не могут быть синтезированы или заменены другими веществами [1, 2, 4, 6]. В современных условиях ведения животноводства на телят постоянно влияют факторы внешней среды: условия содержания, кормления, величина групп, плотность размещения, микроклимат помещений, подготовка кормов к скармливанию и их биологическая ценность. Поэтому следует оптимизировать технологические процессы в животноводстве не только с точки зрения менеджмента производства, но и с точки зрения максимального снижения влияния негативных факторов на организм животных. Эта задача должна выполняться разными путями, один из которых - снижение издержек через создания комолых стад. Создание комолой породы скота – сложный и долгий путь, требующий высокого развития генной инженерии и селекции, это направление безусловно будет развиваться в дальнейшем, но на данном этапе развития сельского хозяйства Республики Беларусь перспективнее получать комолый скот хирургическим путем. В отдельных хозяйствах стали применять обезроживание взрослых животных, но работники сельского хозяйства и ветврачи считают, что наименее затратным и трудоемким способом обезроживания является предупреждение роста рогов у телят [2, 6].

Актуальным вопросом в настоящее время является поиск новых эффективных средств, повышающих резистентность организма, адаптационные возможности и смягчающие действия стрессфакторов на организм телят при предупреждении роста рогов. В настоящее время в животноводстве являются востребованными и актуальными различные витаминно-минеральные препараты, применяемые для обработки телят перед обезроживанием [1, 4].

Целью данного исследования явилось изучение влияния термического способа предупреждения роста рогов и в комбинации с раствором «Белавит» на гематологический статус телят.

Материал и методы исследования. Работа выполнена в СПК «Ольговское», лаборатории кафедры общей, частной и оперативной хирургии УО ВГАВМ и в лаборатории клинической биохимии и иммунологии НИИ «Прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО ВГАВМ». Были сформированы 3 группы телят (первая подопытная – I по, вторая подопытная – II по и контрольная – к) по 6 голов в каждой, в возрасте 20 – 40 дней по принципу условных клинических аналогов. Телята были клинически здоровые и содержались в индивидуальных домиках и клетках. Телят второй подопытной группы предварительно обработали раствором «Белавит» (масляный раствор витаминов А, D3, Е) дважды, через 6 дней. У телят опытных и контрольной групп, утром до кормления измерили температуру тела, подсчитали частоту пульса, дыхания и, соблюдая правила асептики и антисептики, провели забор крови из яремной вены для морфологического исследования. Всем телятам инъецировали по 0,5 мл «Ксиловит» на голову, и когда телята легли, подготовили операционное поле. У телят подопытных групп провели предупреждение роста рогов термическим способом с помощью термокаутера «Portasol II» согласно наставлению. У телят контрольной группы, для чистоты эксперимента, к роговым бугоркам прикладывали на 5-6 секунд выключенный термокаутер. После операции на 1, 3, 7, 14 и 21 сутки, утром до кормления, провели клинический осмотр животных и забор крови из яремной вены для морфологического исследования, которое выполняли на гематологическом анализаторе «Abacus Junior Vet». Для изучения лейкограммы готовили мазки из капли крови, высушивали на воздухе, фиксировали в метиловом спирте, окрашивали азур-эозином по методу Романовского-Гимза и подсчитывали 100 клеток. Скорость оседания эритроцитов определяли методом Панченкова.

Результаты исследований. Применение термического способа при предупреждении роста рогов у телят вызывает нарушение местного статуса. Полученные данные при изучении его действия и в комбинации с раствором «Белавит» на гематологический статус телят представлены в таблицах 1, 2, 3.

Таблица 1 - Результаты морфологического состава крови телят (M±m, n=6)

Показатели	Группы	Сутки (дни лечения)					
		До опыта	1-е	3-и	7-е	14-е	21-е
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	I ПО	8,47±0,246	8,90±0,188	10,39±0,083	11,02±0,042	10,12±0,107	9,07±0,093
	II ПО	9,65±0,332	10,05±0,350	10,70±0,593	10,13±0,394	9,85±0,294	9,52±0,257
	контроль	8,13±0,243	8,15±0,099	8,12±0,210	8,13±0,256	8,12±0,050	8,10±0,033
Эритроциты, ×10 ¹² /л	I ПО	9,14±0,112	9,53±0,030	10,01±0,049	10,12±0,153	9,41±0,174	9,23±0,116
	II ПО	9,11±0,426	9,2±0,398	9,33±0,381	9,24±0,261	9,18±0,259	9,05±0,295
	контроль	8,05±0,083	8,10±0,031	8,10±0,109	8,07±0,029	8,05±0,026	8,05±0,028
Гемоглобин, г/л	I ПО	90,27±1,390	90,77±1,874	91,10±0,767	92,06±0,791	91,50±1,641	90,57±0,560
	II ПО	85,17±4,206	86,50±3,344	87,17±3,682	88,67±3,480	93,17±2,455	90,17±1,833
	контроль	84,00±1,351	84,00±0,879	84,20±1,343	84,10±1,037	84,20±1,343	84,01±1,148
Гематокрит, %	I ПО	28,88±0,504	29,03±0,378	29,58±0,316	30,05±0,342	29,34±0,335	28,61±0,457
	II ПО	29,15±2,187	29,15±2,117	29,63±1,975	29,70±2,128	29,27±2,085	29,07±2,013
	контроль	27,18±0,120	27,20±0,074	27,21±0,084	27,20±0,078	27,20±0,058	27,20±0,223
Средний V эритроцита, fl	I ПО	31,76±0,650	31,82±0,094	31,84±0,483	31,72±0,320	31,72±0,429	31,72±0,421
	II ПО	32,05±0,766	31,85±0,753	31,73±0,594	31,53±0,640	31,35±0,459	31,07±0,504
	контроль	31,90±0,164	32,00±0,300	32,01±0,053	32,00±0,104	32,01±0,222	32,00±0,711
Тромбоциты, ×10 ⁹ /л	I ПО	687,27±29,350	713,60±61,910	735,64±44,515	747,21±35,207	766,01±30,089	689,71±28,104
	II ПО	786,67±56,620	799,83±42,134	849,83±72,485	811,83±56,959	755,50±39,776	712,50±46,927
	контроль	685,00±16,874	629,35±16,192	702,80±25,008	702,80±24,638	683,60±15,194	687,00±7,765
СОЭ, мм/ч	I ПО	0,80±0,022	1,32±0,061	1,55±0,023	1,73±0,023	1,56±0,019	1,03±0,055
	II ПО	0,92±0,047	1,22±0,054	1,57±0,049	1,68±0,060	1,43±0,049	1,10±0,091
	контроль	0,78±0,024	0,81±0,027	0,85±0,026	0,87±0,021	0,85±0,030	0,86±0,026

Анализируя данные таблицы 1, следует отметить, что за период исследования, после операции, происходит постепенное увеличение количества лейкоцитов у телят первой подопытной группы на первые, третьи, седьмые сутки на 5,08%; 22,67%, 30,11%, а у телят второй подопытной группы на первые, третьи составило: 4,14% и 10,88%. Тенденцию снижения количества лейкоцитов отметили у телят первой подопытной группы на 14 сутки, а второй – 7 сутки, но вместе с тем они превышали исходные данные на 19,49% и 2,07%. На 21 сутки количество лейкоцитов в первой группе оставалось увеличенным на 7,08%, а у телят второй группы было на дооперационном уровне.

Одновременно с увеличением количества лейкоцитов, увеличивалось количество эритроцитов в первой подопытной группе до 7 суток, а во второй – 3 суток и составило 10,72% и 2,41%, по отношению к первоначальному данным. В дальнейшем отмечалась тенденция к снижению их содержания. Следует отметить, что увеличение количества эритроцитов в первой подопытной группе в первые сутки совпало с усиленным потоотделением и составило 4,27%, а во второй – 0,99%. На двадцать первые сутки исследования в первой подопытной группе количество эритроцитов было 9,23±0,116 ×10¹²/л, что на 0,98% выше, чем перед началом опыта, а у телят второй подопытной группы 9,05±0,295 ×10¹²/л, что на 0,66% ниже дооперационного уровня.

Увеличение количества гемоглобина шло одновременно с увеличением содержания эритроцитов, на протяжении всего периода исследования. Максимальное увеличение его количества отмечали в первой подопытной группе на 7 сутки (1,98%), а во второй на 14 сутки (9,39%), затем шло понижение, но и на 21 сутки он был повышен в первой подопытной группе на 0,33%, а во второй на 5,87%.

Содержание гематокрита было повышено в первой подопытной группе в 1, 3, 7 сутки, а во второй на 3 и 7 и затем понижалось. На 21 сутки он был ниже исходного уровня в первой подопытной группе на 0,27%, а во второй на 0,08%.

Изменение среднего объема эритроцита в подопытных группах было в пределах до 1% по отношению к первоначальному данным.

Количество тромбоцитов до операции в первой подопытной группе составляло $687,27 \pm 29,350 \times 10^9/\text{л}$, а затем отмечалось их постепенное увеличение до 14 суток и составило $766,01 \pm 30,089 \times 10^9/\text{л}$ (на 11,46% выше). На двадцать первые сутки их количество соответствовало дооперационному уровню. Во второй подопытной группе количество тромбоцитов постепенно увеличивалось до трех суток, а затем снижалось и на 14-21 сутки было ниже дооперационного уровня, но они не выходили за пределы физиологической нормы. Установлено, что тромбоциты участвуют не только в коагуляции крови, но также в феноменах воспалительного процесса.

Скорость оседания эритроцитов в первой подопытной группе телят увеличилась: в первые сутки на 65%, третьи - 94%, седьмые - 116,25%, а затем постепенно снижалась. Однако, к двадцать первым суткам СОЭ не вернулась к исходному уровню и была повышена на 28,75%, что говорит о продолжении воспалительного процесса в очаге поражения. Во второй подопытной группе СОЭ увеличилась: в первые сутки на 32,61%, третьи - 70,65%, седьмые - 82,61% а затем снижалась, но и к двадцать первым суткам не вернулась к исходному уровню и была повышена на 19,56%.

В контрольной группе телят, после взятия крови для гематологического исследования было повышено на 1 сутки количество лейкоцитов на 0,37%, на 1 и 3 сутки эритроцитов на 0,33%, на протяжении всех дней исследования гематокрита на 0,33% и СОЭ от 2,56% на третьи сутки, до 11,54% на 7 сутки исследования.

Одновременно с вышеперечисленными морфологическими исследованиями, нами были проанализированы лейкограммы в мазках крови подопытных и контрольной групп телят, результаты их представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты исследования лейкограммы крови телят ($M \pm m$, n=6)

Показатели	Группы	Дни лечения						
		До опыта	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки	
Базофилы, %	I ПО	0	0	0,2±0,0	0	0	0	
	II ПО	0,17±0,166	0	0,17±0,166	0,17±0,166	0	0	
	контроль	0	0	0	0	0	0	
Эозинофилы, %	I ПО	1,6±0,221	2,8±0,416	0,6±0,163	0,6±0,163	2,2±0,249	1,6±0,266	
	II ПО	2,17±2,166	3,0±0,577	2,68±0,516	2,17±0,307	2,5±0,428	2,33±0,421	
	контроль	2,0±0,333	0,7±0,152	1,0±0,149	1,0±0,149	1,0±0,149	1,0±0,149	
Нейтрофилы	Миелоциты, %	I ПО	0	0	0	0	0	0
		II ПО	0	0	0	0	0	0
		контроль	0	0	0	0	0	0
	Юнные, %	I ПО	0,4±0,163	0,4±0,163	0	0	0,2±0,0	0
		II ПО	0,34±0,333	0,67±0,333	0,5±0,223	0,33±0,210	0,5±0,341	0
		контроль	0	0	0	0	0	0
	Палочкоядерные, %	I ПО	2,6±0,498	4,2±0,388	4,8±0,300	5,8±0,628	4,4±0,476	4,2±0,326
		II ПО	2,83±0,792	3,83±0,600	4,5±0,428	4,67±0,954	4,17±0,477	3,0±0,365
		контроль	3,3±0,3	2,4±0,163	2,4±0,163	3,0±0,210	3,0±0,258	3,0±0,258
Сегментоядерные, %	I ПО	44,0±2,859	44,0±3,657	52,2±1,350	54,0±2,092	53,0±2,444	50,4±1,826	
	II ПО	35,83±2,414	42,33±5,992	46,29±4,139	46,33±4,659	43,0±3,785	37,17±2,242	
	контроль	33,4±0,498	39,0±1,341	38,8±1,913	37,6±2,114	39,5±1,002	39,5±1,569	
Лимфоциты, %	I ПО	49,4±2,425	46,4±5,637	40,55±1,095	37,2±1,973	37,8±2,220	41,0±1,535	
	II ПО	56,33±0,988	47,0±6,121	42,68±4,348	42,66±4,550	46,33±3,499	54,5±1,839	
	контроль	59,0±0,365	56,2±1,436	55,6±1,904	56,1±2,035	54,4±0,858	54,5±1,627	
Моноциты, %	I ПО	2,0±0,298	2,2±0,258	2,2±0,388	2,4±0,305	2,4±0,305	2,8±0,359	
	II ПО	2,33±0,421	3,17±0,792	3,18±0,980	3,67±0,333	3,5±0,421	3,0±0,365	
	контроль	2,3±0,213	1,7±0,152	2,2±0,133	2,3±0,152	2,1±0,316	2,0±0,258	

Анализируя полученные результаты таблицы », следует отметить, что у телят первой подопытной группы увеличено в первые сутки количество эозинофилов на 1,2%, палочкоядерных нейтрофилов на 1,6% и моноцитов на 0,2% при снижении лимфоцитов на 3%, что указывает на развитие острого воспалительного процесса в организме. На третьи и седьмые сутки уменьшено количество лимфоцитов на 8,85% и 12,5%, эозинофилов на 1% и увеличено количество нейтрофилов палочкоядерных на 2,2% и 3,2%, сегментоядерных на 8,2% и 10,0% и моноцитов на 0,2% и 0,4%. Эти данные подтверждают наличие воспалительного процесса с осложнениями у отдельных животных и снижение резистентности организма, так как лимфоциты являются ключевыми клетками иммунной системы. На четырнадцатые сутки, по отношению к седьмым, повышено количество эозинофилов на 1,6%, понижено количество палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов на 1,4% и 1%, что указывает на затухание воспалительного процесса и преобладание процессов регенерации. Количество лимфоцитов и моноцитов осталось на уровне седьмых суток. На двадцать первые сутки, по отношению к четырнадцатым, количество лимфоцитов и моноцитов повысилось на 3,2% и 0,4%, понижено количество палочкоядерных нейтрофилов на 0,2% и сегментоядерных на 2,6%. Однако нейтрофилы не вернулись к исходным данным, что указывает на продолжение воспалительного процесса в организме телят с признаками регенерации.

У телят второй подопытной группы в первые и третьи сутки увеличено количество эозинофилов на 0,83% и 0,51%, нейтрофилов - 7,83% и 12,29%, моноцитов - 0,84% и 0,85%, при снижении лимфоцитов на 9,33% и 13,65% соответственно, что указывает на развитие острого воспалительного процесса. На седьмые сутки количество нейтрофилов и лимфоцитов остается на уровне третьих суток с увеличением моноцитов на 0,49%. Эти данные показывают затухание острого воспалительного процесса. На четырнадцатые сутки по отношению к седьмым происходит понижение количества нейтрофилов на 3,83%, моноцитов на 0,17% и повышение эозинофилов на 0,33% и лимфоцитов на 3,67%. Эти данные подтверждают, что в организме телят

воспалительный процесс перешел в стадию пролиферации. На двадцать первые сутки показатели лейкограммы крови телят соответствовали уровню животных контрольной группы.

В контрольной группе телят изменение количества лейкоцитов шло за счет увеличения сегментоядерных нейтрофилов в первые сутки на 5,6%, третьи – 5,4%, седьмые – 4,2%, четырнадцатые и двадцать первые – 6,1%. При одновременном понижении количества эозинофилов, палочкоядерных нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов, как отмечено в таблицах 1 и 2. Эти данные не выходили за пределы нормы, характерной для данного вида животных.

Следует отметить, что на протяжении опыта содержание в лейкограмме лимфоцитов обратно пропорционально количеству нейтрофилов, что отмечено в таблице 3.

Таблица 3 - Соотношение нейтрофилов и лимфоцитов в крови телят подопытных и контрольной групп

Группы	Дни лечения					
	До опыта	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
I ПО	0,95:1,0	1,05:1,0	1,41:1,0	1,61:1,0	1,52:1,0	1,03:1,0
II ПО	0,69:1,0	0,99:1,0	1,26:1,0	1,20:1,0	1,03:1,0	0,74:1,0
контроль	0,62:1,0	0,74:1,0	0,74:1,0	0,72:1,0	0,78:1,0	0,78:1,0

Данные таблицы 3 показывают, что увеличение нейтрофилов идет у телят первой подопытной группы до 7 суток, а во второй – трех суток. Затем отмечали их снижение, но у телят первой подопытной группы к 21 суткам они не достигают исходного уровня.

Колебание данных лейкограммы крови телят второй подопытной группы менее выражены, чем у телят первой подопытной группы.

Таким образом, у телят I ПО группы развитие воспалительного процесса идет до 7 суток, а затем отмечается затухание, но и на 21 сутки показатели морфологического состава крови не приходят к дооперационному уровню. У телят второй подопытной группы развитие воспалительного процесса идет до 3 суток, затем отмечается затухание и на 21 сутки морфологический состав крови соответствовал первоначальному уровню.

Заключение. Термический способ предупреждает рост рогов, но вызывает изменение гематологического статуса телят. Раствор «Белавит» сокращает течение воспалительного процесса и нормализует гематологический статус телят. На основании проведенных исследований мы рекомендуем проводить предупреждение роста рогов у телят термическим способом с предварительной их обработкой раствором «Белавит».

Литература. 1. Белявский, В. Н. Комплексная фармакопрофилактика стрессов у молодняка крупного рогатого скота в условиях промышленной технологии [Сравнительное испытание эффективности препаратов «Аесел» (витамины А и Е, селен), «Кислота аскорбиновая 10%-ная с глюкозой», «Хула» (ксилазин) и «Катозал» перед обезроживанием бычков на откорме] / В. Н. Белявский, В. П. Гудзь, С. С. Ушаков // С.-Петербург. Гос. Акад. Ветеринар. Медицины – Санкт-Петербурге, 2011. – С. 59 – 61. 2. Веремей, Э. И. Лечебно-профилактические мероприятия для крупного рогатого скота при хирургической патологии на молочных комплексах Витебской области: рекомендации / Э.И. Веремей, В.М. Руколь, В.А. Журба. – Витебск: ВГАВМ, 2011.-28с. 3. Ковалевская, Т. А. Производство молока при привязном и беспривязном содержании дойного стада. / Т. А. Ковалевская, Л. М. Линник, О. В. Заяц, Н. Л. Фурс, В. Н. Куртина // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск, 2014. Т – 50 в. 2 ч.1. – С. 287-291. 4. Морозова, С. А. Влияние комплексного витаминно-минерального препарата «Олиговит» на развитие болевого стресса у телят после обезроживания / С. А. Морозова, В. Н. Белявский // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы / Гродненский государственный аграрный университет. - Гродно. 2005. – Т - 3. -С. 207. 5. Мысик, А. Т. Современное состояние производства продукции животноводства в мире / А. Т. Мысик// Зоотехния. – 2010. - №1. – С.41-44. 6. Руколь, В. М. Способы предупреждения роста рогов у телят в условиях промышленных технологий. / В. М. Руколь, //Международный вестник ветеринарии, 2011.-№2.- С. 21-24.

Статья передана в печать 07.04.2015 г.

УДК 619:618.19-002-085:636.2

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И ОЦЕНКА МЕСТНОГО РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ИНТРАЦИСТЕРНАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА «СУПЕРМАСТ»

Бабаянц Н.В., Мирончик С.В.

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

В статье приводятся данные по изучению острой токсичности и местного раздражающего действия препарата «Супермаст».

The article presents data on the study of acute toxic and the study of local irritant properties of the drug "Supermast".

Ключевые слова: корова, мастит, «Супермаст», токсичность, интрацистернальный препарат.
Keywords: cow, mastitis, «Supermast», toxicity, intracisternal drug.

Введение. Мастит у коров является серьезной проблемой, решение которой необходимо для успешного ведения молочного скотоводства и животноводства в целом в Республике Беларусь. Патология молочной железы у коров наблюдается у животных в хозяйствах с различным состоянием кормовой базы, технологиями ведения производства и представляет серьезную проблему для животноводства нашей республики. Мастит является одной из основных причин преждевременной выбраковки большого числа коров на молочных фермах и комплексах. В некоторых хозяйствах маститом переболевает до 70% коров, у животных заболевание может регистрироваться от 2 до 5 раз в год.

Молочная продуктивность коров во многом зависит от функциональной стабильности молочной железы. Следует также отметить, что для заболевания коров маститом из всех физиологических периодов наиболее опасным является лактационный (в виду высокой функциональной нагрузки на молочную железу) [3]. При возникновении мастита отмечается не только снижение молочной продуктивности у коров, но и изменяется состав, физико-химические свойства и санитарно-гигиенические показатели молока. Одним из этиологических факторов заболевания коров маститом является условно-патогенная микрофлора, накапливающаяся в животноводческих помещениях. Проникая в молочную железу галактогенным путем с кожи сосков, она может вызывать мастит [4]. При этом условно-патогенные микроорганизмы, инфицирующие молочную железу, способствуют нарушению секреции молока и существенно изменяют его состав (снижается способность клеток вымени синтезировать казеин, лактозу и жир), в очагах воспаления повышается проницаемость кровеносных сосудов для ионов и сывороточных белков. При клинических маститах значительным изменениям подвергаются и внешние показатели качества молока. В производственных условиях изменения состава молока, вызванные субклиническим маститом, приводят к ухудшению качества молочных продуктов (снижается способность казеина к коагуляции под действием сычужного фермента, термоустойчивость молока, содержание сухого обезжиренного молочного осадка) [1].

Актуальность данного вопроса обусловлена также тем, что маститы оказывают влияние и на воспроизводительную функцию животных. По данным некоторых исследователей, почти у каждой четвертой коровы с воспалением молочной железы диагностирован эндометрит, кисты и другие заболевания яичников [2].

При лечении коров, больных маститом, а также применяя ряд целенаправленных профилактических мероприятий, необходимо учитывать, что сегодня к молоку предъявляются высокие требования, в частности касающиеся содержания антибиотиков, ингибирующих веществ, остатков лекарственных препаратов в молоке, которые резко снижают технологические свойства молока и оказывают вредное влияние на здоровье людей.

Таким образом, необходимо продолжать вести работу по разработке новых эффективных и безопасных комплексных методов терапии больных животных (способствующих сокращению сроков лечения и восстановлению молочной продуктивности) и профилактике маститов.

Целью настоящего эксперимента было проведение токсикологической оценки (изучение острой оральной токсичности и местного раздражающего действия) интрацистернального препарата «Супермаст».

Материалы и методы исследований. Для определения показателей острой оральной токсичности препарата «Супермаст» использовали 6 групп по 6 мышей (по 3 самки и 3 самца), массой 20-30г. Кроме того, имелись аналогичные по численности и соотношению полов группы контрольных животных. В опыте использовали клинически здоровых животных, ранее не подвергавшихся токсическому воздействию. Животные распределялись по группам случайным образом. В качестве критерия приемлемости рандомизации считали отсутствие внешних признаков заболеваний и гомогенность групп по массе тела ($\pm 20\%$). Местное раздражающее действие препарата определяли на 3-х кроликах в возрасте 4 месяцев (массой 2000-3000г).

Лабораторных животных подбирали и содержали согласно требованиям «Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Ежедневный рацион лабораторных животных составлялся на основании суточной нормы кормов для лабораторных животных.

Перед постановкой эксперимента лабораторные животные выдерживались в карантине. Длительность карантина (адаптационного периода) составляла 14 дней. В течение карантина проводили ежедневный осмотр каждого животного (поведение и общее состояние), дважды в день животных наблюдали в клетках. Перед началом исследования животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, были распределены на группы с помощью метода рандомизации. Животные, не соответствующие критериям, были исключены из исследования в течение карантина.

Для определения показателей острой оральной токсичности препарат «Супермаст» вводили белым мышам обоего пола перорально (внутрижелудочно) с применением пластмассового атрауматического зонда с инсулиновым шприцом в возрастающих дозах по схеме, приведенной в таблице 1, двукратно с интервалом 3 часа (так как расчетный объем раствора превышал предельно допустимый уровень).

Таблица 1 - Схема опыта при определении острой токсичности препарата

№ лабораторных животных (белые мыши)	Группа лабораторных животных	Средняя масса по группе до начала опыта, г	Доза препарата (дист. воды с основой препарата), вводимая в желудок мыши	
			Объем, мл	мг/кг по АДВ
1-6	1-я опытная	26,9	0,3 препарата	1071,4
7-12	2-я опытная	27,5	0,4 препарата	1428,6
13-18	3-я опытная	28,5	0,5 препарата	1785,7
19-24	4-я опытная	28,6	0,6 препарата	2142,9
25-30	5-я опытная	28,5	0,7 препарата	2500
31-36	контрольная	28,7	0,7 основы	2500

В расчетах средняя масса белой мыши считалась 28 грамм. Точность дозирования достигалась изменением объема вводимого препарата или основы препарата на дистиллированной воде. Вещества вводили в желудок мышам натошак. Животных фиксировали в вертикальном положении с незначительно запрокинутой головой. Пероральное введение производилось через пластмассовый атравматический зонд с инсулиновым шприцом, легкими вращательными движениями продвигали зонд в желудок мыши. Препарат вводили медленно. Контрольным животным вводился максимальный объем дистиллированной воды с основой препарата.

Повторное введение препарата (дистиллированной воды с основой препарата) повторяли через 3 часа после первого введения согласно той же схеме. Суммарная доза введенного препарата отражена в таблице 2.

Таблица 2 - Итоговые данные опыта определения острой токсичности препарата

№ лабораторных животных (белые мыши)	Группа лабораторных животных	Средняя масса по группе до начала опыта, г	Суммарная доза препарата (дист. воды с основой препарата), вводимая в желудок мыши	
			Объем, мл	мг/кг по АДВ
1-6	1-я опытная	26,9	0,6препарата	2142,8
7-12	2-я опытная	27,5	0,8 препарата	2857,2
13-18	3-я опытная	28,5	1,0 препарата	3571,4
19-24	4-я опытная	28,6	1,2 препарата	4285,8
25-30	5-я опытная	28,5	1,4 препарата	5000
31-35	контрольная	28,7	1,4 основы	5000

Период последующего наблюдения за лабораторными животными составил 14 дней. В течение этого времени оценивали следующие критерии: клинические симптомы интоксикации, показатели общего состояния, потребление корма и воды, внешний вид, поведение, степень проявления реакции на внешние раздражители. До начала эксперимента, а также на 2, 7 и 14 дни производилось взвешивание лабораторных животных.

Через 14 дней животные всех экспериментальных групп были подвергнуты эвтаназии передозировкой эфира и подвергнуты патоморфологическому исследованию.

Местное раздражающее действие препарата определяли на 3-х кроликах в возрасте 4 месяцев. На выстриженные участки кожных покровов 2х3 см равномерно наносили препарат в дозе 20 мг/см², разведенный в 0,1мл дистиллированной воды. Нанесение вещества осуществляли открытым способом при температуре окружающей среды 18-240С. Перед аппликацией снимали фоновые показатели – температуру кожи, толщину кожной складки. Контрольные животные находились в одинаковых условиях. На соответствующие участки кожи наносили разбавитель (дистиллированную воду). При изучении местного действия контролем служил противоположный участок кожи того же животного. Экспозиция составляла 4 часа. По окончании четырехчасовых аппликаций остатки веществ удаляли теплой водой с мылом аккуратно, стараясь не повредить кожу, последним сухим тампоном промокали участок кожи. Реакция кожи регистрировалась по окончании однократной экспозиции через 1 и 16 часов после экспозиции (так как отсутствовали признаки раздражения). Период наблюдения за клиническими проявлениями интоксикации и состоянием кожных покровов составлял две недели.

Оценка функционального состояния и отека кожи при изучении местного действия веществ проводилась согласно параметрам, отраженным в таблицах 3 и 4.

Таблица 3 - Оценка степени эритемы

Интенсивность эритемы визуально	Оценка в баллах
Отсутствие эритемы	0
Слабая (розовый тон)	1
Умеренно выраженная (розово-красный тон)	2
Выраженная (красный тон)	3
Резко выраженная (ярко-красный тон)	4

Таблица 4 - Оценка отека кожи животных

Интенсивность отека		Оценка отека в баллах
Градации интенсивности	Нарастание толщины кожной складки животных, по сравнению с фоном, мм	
Отсутствие	0	0
Слабая	до 0,5	1
Умеренная	0,6-1,0	2
Выраженная	1,0-2,0	3
Резко выраженная	более 2,0	4

Эксперимент по исследованию раздражающего действия на слизистые оболочки и орган зрения проводился на 3-х кроликах в возрасте 4 месяцев. В нижний конъюнктивальный свод правого глаза однократно вносили 50 мкг препарата «Супермаст», предварительно растворенного в дистиллированной воде. При внесении оттягивали внутренний угол конъюнктивального мешка, а затем в течение 1 минуты прижимали слезно-носовой канал. В контрольный (левый) глаз кроликов вносили растворитель (дистиллированную воду) в эквивалентных количествах (1 каплю). Визуальное наблюдение за состоянием слизистой конъюнктивы глаз подопытных животных проводили уже через 5 минут, а затем ежедневно в течение первых восьми часов и ежедневно в течение двух недель.

Оценку раздражающего действия веществ на слизистую оболочку глаза кролика проводили, учитывая реакцию глаза, согласно следующим показателям: выделения, гиперемия конъюнктивы и роговицы, отек век.

Результаты исследований. В ходе эксперимента сразу после введения препарата погибла 1 мышь в контрольной группе. Гибель наступила от асфиксии, так как была нарушена техника постановки зонда. В остальных случаях летальных эффектов достичь не удалось. Также не отмечалось значимых нарушений общего состояния и поведения животных. Отмечавшееся снижение активности и потребления корма в первые и последующие сутки имели место и в контрольной группе животных, что связано, по всей видимости, не с токсическим действием препарата, а со стрессом, испытанным животными при пероральном введении больших объемов раствора.

Динамика массы тела лабораторных животных во всех группах оставалась на одном уровне. На второй день исследования отмечалась некоторая потеря массы тела у животных всех групп, в том числе и контрольной. Этот эффект, по-видимому, вызван был стрессом, связанным с насильственным внутривенным введением и голодной диетой до введения препарата и в течение 3 часов после. Так как у животных контрольной группы, в желудок которых вводилась дистиллированная вода с основой препарата, наблюдалась такая же тенденция.

Во все дни наблюдения по общему состоянию и поведению опытные животные не отличались от контрольных. Мыши были подвижными, адекватно реагировали на внешние раздражители, охотно принимали корм и воду.

У всех лабораторных животных, как опытных групп, так и контрольных, на вторые сутки после постановки эксперимента отмечались изменения со стороны деятельности желудочно-кишечного тракта, которые выражались в разжижении фекалий и учащении актов дефекации. Но к третьему дню картина нормализовалась.

Таким образом, ЛД₅₀ препарата «Супермаст» составляет более 5000 мг/кг и по классификации ГОСТ 12.1.007-76 препарат относится к IV классу опасности – вещества малоопасные (ЛД₅₀ более 5000 мг/кг).

Животные всех экспериментальных групп были подвергнуты эвтаназии передозировкой эфира в конце исследования (через 14 дней). При патоморфологическом исследовании мышей установлено, что животные опытных групп не отличались по патологоанатомическим показателям от животных контрольной группы.

При изучении местного раздражающего действия препарата изменений функционального состояния кожи в виде эритем (0 баллов) и отеков (0 баллов) у подопытных животных (кроликов) не наблюдалось. Классификация выраженности раздражающих кожу свойств веществ при их однократном местном воздействии отражена в таблице 5.

Таблица 5 - Классификация выраженности раздражающих кожу свойств веществ

Классы	Среднегрупповой балл выраженности отека и эритемы	Выраженность местного раздражающего действия
1	0	Отсутствие раздражающего действия
2	0,1-2,0	Слабое раздражающее действие
3	2,1-4,0	Умеренно раздражающее действие
4	4,1-6,0	Выраженное раздражающее действие
5	6,1-8,0	Резко выраженное раздражающее действие вплоть до некроза

Согласно классификации выраженности раздражающих кожу свойств веществ при их однократном местном воздействии препарат относится к 1 классу.

Изучая раздражающее действие препарата на слизистые оболочки и орган зрения, выделений, гиперемии конъюнктивы и отека век у кроликов не наблюдалось. Итоговая оценка – 0-0,4 балла (отсутствие раздражения).

Заключение. Таким образом, исследование острой оральной токсичности на белых мышах и оценка местного раздражающего действия показали, что препарат «Супермаст» переносится лабораторными животными без видимых последствий. По параметрам острой токсичности препарат относится к IV классу опасности (малоопасные вещества), согласно классификации веществ по степени воздействия на организм (ГОСТ 12.1.007-76). Согласно классификации выраженности раздражающих кожу свойств веществ при их однократном местном воздействии препарат относится к 1 классу.

Литература. 1.Белозерцева, Н.С. Совершенствование ранней диагностики субклинического мастита у коров / Н.С. Белозерцева, С.В. Федотов, Г.М. Удалов // Ветеринария. – 2013. № 5. С.37 – 40. 2. Кузьмич, Р.Г. Рекомендации по диагностике, лечению и профилактике маститов у коров / Р.Г.Кузьмич, А.А. Летунович – Витебск: УО ВГАВМ, 2006. – 59 с. 3. Олейник, А. Мастит, мастит, мастит / А. Олейник // Молочное и мясное скотоводство. - 2006. - N 7. - С. 26-29. 4. Попов, Ю.Г. Этиопатогенетическая роль условно-патогенной микрофлоры при массовых болезнях скота / Ю.Г.Попов // Современные проблемы в эпизоотологии: Матер. Междунар. науч. конф. (Краснобск, 30 июня 2004 г.). – Новосибирск, 2004. С. 204-207.

Статья передана в печать 03.04.2015 г.

ОЦЕНКА ИММУНОГРАММ СОБАК С РАЗНЫМ ОТНОСИТЕЛЬНЫМ КОЛИЧЕСТВОМ РОЗЕТКООБРАЗУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛОВ

Брошков М.М.

Одесский государственный аграрный университет, г. Одесса, Украина

В статье представлены данные иммунофизиологических показателей собак в зависимости от различного содержания розеткообразующих нейтрофилов (Э-РОН). Установлено, что увеличение рецепторной активности нейтрофилов способствует одновременному увеличению фагоцитарной активности этих клеток. Отмечены изменения в субпопуляциях лимфоцитов при разных количествах Э-РОН, что выразилось в увеличении Т-клеток и уменьшении В-клеток.

The article presents data of dog's immunophysiological indicators depending on the content of various rosette neutrophils (E-RCN). It has been established that the increase in neutrophil receptor activity contributes to the simultaneous increase of the phagocytic activity of these cells. The changes in lymphocyte subpopulations in different quantities E-RCN, which was reflected in an increase in T-cells and B-cells decrease were mark.

Ключевые слова: собаки, иммунитет, лимфоцит, фагоцитарная активность нейтрофилов, НК-клетка, иммунорегуляторный индекс.

Keywords: dog's, immunity, lymphocyte, phagocytic activity of neutrophils, NK cells, immunoregulatory index.

Введение. Особенностью существования собак в современном мире определяется увеличением их популяции и более тесным сосуществованием с человеком в разных качествах и взаимодействии: собака-поводырь, охранник, охотник и т.д. По данным Strayanimalcontrolpractices (Europe)[1] в 16 (51%) европейских странах сообщают об увеличении популяции на протяжении последних пяти лет. Так, в Бельгии количество хозяйских собак достигло 1,6 млн., Германии – 5,3 млн., Польше – 6–7 млн. Только одна Великобритания характеризуется уменьшением популяции собак до уровня 6 млн. В Украине количество собак неизвестно, но только около 500 тысяч ежегодно подвергаются эвтаназии[1].

Исследования, проведенные среди мелких домашних животных в промышленных городах, показали существенный сдвиг в их иммунологическом статусе, что оставляет отпечаток на течении инфекционной и неинфекционной патологии. Ведущее значение в невосприимчивости к условно-патогенным микробам имеет состояние системы иммунитета организма, которое определяется функционированием лимфоидной, гранулоцитарной и мононуклеарно-макрофагальной клеточных систем и гуморальных (антитела, комплемент и другие) факторов иммунитета[2].

Известно, что нейтрофилы играют важную роль в естественной резистентности организма при многих заболеваниях и, особенно, при инфекционных. Функция нейтрофилов многогранна, не ограничивается только фагоцитозом. Так, они способны к образованию и выделению лизосомальных энзимов в окружающую среду, благодаря чему проявляется их бактерицидная активность. Вообще, к антимикробной системе нейтрофилов можно отнести дегидрогеназы лизосом, лизоцим, лактоферрин, катионные белки и др. Гидролитические энзимы лизосом оказывают не только бактериостатическое действие, но также могут участвовать в разрушении поврежденных при воспалении клеток и тканей организма. Одновременно с гидролитическими энзимами освобождаются лизоцим, молочная кислота и разнообразные белки, обладающие бактериостатическими и бактерицидными свойствами. Кроме того, в нейтрофилах идентифицирован ряд факторов, относящихся к процессам гемостаза. Таким образом, нейтрофилы имеют немаловажное значение в патогенезе заболеваний. Поэтому выяснение закономерностей естественной резистентности организма, а именно ее нейтрофильного звена, очень важно. Особенно актуальным является определение доли антигеноспецифичных нейтрофилов в их общем количестве[3].

Естественная элиминация условно-патогенных возбудителей в значительной степени зависит от фагоцитарной активности лейкоцитов [4, 5]. Последняя, в свою очередь, определяется состоянием различных рецепторов лейкоцитов, участвующих не только в непосредственном связывании возбудителя, но, что не менее важно, и во взаимодействии между различными типами лейкоцитов, обеспечивающем их взаимную активацию в инфекционном процессе [6, 7, 8]. Поэтому состояние биологически активных структур, в частности различных рецепторов поверхности нейтрофилов, во многом определяет резистентность к инфекции [9, 10, 11]. В доступных литературных источниках мы не нашли данных о различиях показателей иммунограмм собак при различной рецепторной активности нейтрофилов. Поэтому нами были проанализированы показатели иммунофизиологического состояния собак в зависимости от способности нейтрофилов образовывать розетки с эритроцитами барана.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на кафедре физиологии, биохимии и микробиологии Одесского государственного аграрного университета совместно с лабораторией иммунологии института глазных болезней им. акад. В.П. Филатова. Клинический осмотр собак и отбор проб крови проводили в условиях частной ветеринарной клиники г. Одессы. Материалом для исследований была предварительно стабилизированная периферическая кровь беспородных собак, возрастом 1–5 лет (n=75), которые имели одинаковые условия содержания и кормления. Кровь отбирали утром на голодный желудок из локтевой вены в пробирку с ЭДТА. В крови определяли абсолютное количество лейкоцитов, абсолютное и относительное количество лимфоцитов и их субпопуляций, а также количество фагоцитирующих и розеткообразующих нейтрофилов [12]. Количество лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева, лейкоцитарную формулу выводили в мазке, предварительно окрашенной по Романовскому-Гимза. В крови определяли абсолютное и относительное содержание лимфоцитов и их субпопуляций в реакции розеткообразования с эритроцитами

барана (Э-тф.р.-РОЛ, Э-тф.ч.-РОЛ). В-лимфоциты определяли в реакции розеткообразования с эритроцитами мыши (М-РОЛ). Фагоцитарную активность нейтрофилов определяли по способности захватывать пекарские дрожжи в пересчете на 50 клеток. Розеткообразующей считали клетку, которая присоединила три и более эритроцита. Фагоцитирующим считали нейтрофил, который поглотил одну и более дрожжевых клеток.

Результаты исследований. Для определения различий в показателях иммунограмм собак их разделили на три группы в зависимости от способности нейтрофилов образовывать розетки с эритроцитами барана. Первая группа – Э-РОН $\leq 50\%$ (n=24), вторая группа – Э-РОН – 50–70% (n=41), третья группа – Э-РОН $\geq 70\%$ (n=10).

При сравнительном анализе абсолютного числа лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляций, а также фагоцитарной активности нейтрофилов (таблица 1) собак I и II групп установлено, что при Э-РОН 50–70 % абсолютное количество лейкоцитов ниже на $2,0 \cdot 10^9/\text{л}$, чем у собак с Э-РОН $\leq 50\%$. В то же время, у собак II группы установлены следующие повышенные показатели: абсолютное количество лимфоцитов – на $0,43 \cdot 10^9/\text{л}$, Т-лимфоцитов – $0,281 \cdot 10^9/\text{л}$, Т-хелперных (Э-тф.р.-РОЛ) – $0,362 \cdot 10^9/\text{л}$.

Таблица 1 - Показатели иммунограмм собак при разном содержании розеткообразующих нейтрофилов (Э-РОН)

Показатели	Группа животных		
	Э-РОН $\leq 50\%$, n=24	Э-РОН 50–70%, n=41	Э-РОН $\geq 70\%$, n=10
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	8,90 \pm 2,93	6,95 \pm 3,84	11,20 \pm 5,18
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,57 \pm 0,62	2,10 \pm 0,56	2,29 \pm 1,14
Т-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,98 \pm 0,31	1,26 \pm 0,30	1,88 \pm 0,53
Т-хелперы/индукторы, $\times 10^9/\text{л}$	0,74 \pm 0,42	1,10 \pm 0,51	1,27 \pm 0,44
Т-супрессоры/цитотоксические, $\times 10^9/\text{л}$	0,29 \pm 0,08	0,29 \pm 0,11	0,62 \pm 0,12
В-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,17 \pm 0,09	0,21 \pm 0,09	0,22 \pm 1,23
Иммунорегуляторный индекс, Тх/Тс	3,38 \pm 1,68	3,11 \pm 1,76	3,14 \pm 2,06
НК-клетки, $\times 10^9/\text{л}$	0,17 \pm 0,09	0,18 \pm 0,07	0,19 \pm 0,09
Фагоцитоз нейтрофилов, $\times 10^9/\text{л}$	3,47 \pm 0,76	3,98 \pm 0,98	6,38 \pm 0,94

При этом абсолютное количество субпопуляции Т-супрессорных лимфоцитов (Э-тф.ч.-РОЛ) в обеих группах было практически одинаковым. Также не изменялось и абсолютное количество широкоплазменных лимфоцитов (НК-клетки). Оценка показателей иммунограмм у собак III группы показала, что повышенное содержание поверхностных рецепторов на нейтрофилах к эритроцитам барана (Э-РОН $\geq 70\%$) сопровождается более высоким абсолютным количеством лейкоцитов – на $4,25 \cdot 10^9$, чем у животных II группы. Также в группе собак с Э-РОН $\geq 70\%$ отмечено большее абсолютное количество лимфоцитов и Т-супрессорных клеток. Если в первых двух группах их количество практически одинаково, то в III группе их больше на $0,324 \cdot 10^9$, чем во II группе. Следует отметить, что при разных показателях Э-РОН практически не изменилось абсолютное количество В-лимфоцитов и НК-клеток. Анализ фагоцитарной активности нейтрофилов при различных показателях Э-РОН показал, что с увеличением количества поверхностных мембранных рецепторов на нейтрофилах увеличивается и способность этих клеток к фагоцитозу. Так, при Э-РОН 50–70 % фагоцитирующих клеток больше на $0,515 \cdot 10^9$, чем при Э-РОН $\leq 50\%$. А при Э-РОН $\geq 70\%$ нейтрофилов, способных к фагоцитозу, оказалось больше в 1,6 раза.

Оценка величины иммунорегуляторного индекса (ИРИ) показала, что наиболее высоким он был в группе, где Э-РОН $\leq 50\%$. Как известно, повышенный ИРИ свидетельствует о дисбалансе между иммунорегуляторными субпопуляциями лимфоцитов (преобладанием Т-хелперной активности над Т-супрессорной) и может являться одним из факторов риска развития иммунопатологических реакций [9]. Во взаимодействии между субпопуляциями Т-лимфоцитов лежит механизм, при котором активированные Т-супрессоры подавляют активность Т-хелперов. В свою очередь, Т-хелперы при резком увеличении их количества стимулируют образование Т-супрессоров, которые подавляют активность Т-хелперов [4,8].

Анализ относительного количества лимфоцитов и их субпопуляций, а также нейтрофилов с фагоцитарной активностью (таблица 2) показал, что увеличение количества Э-РОН сопровождается выраженным увеличением субпопуляции Т-лимфоцитов и фагоцитирующих нейтрофилов.

Таблица 2 – Относительное количество лимфоцитов, их субпопуляций и фагоцитарная активность нейтрофилов при разном содержании розеткообразующих нейтрофилов (Э-РОН)

Показатели	Группа животных		
	Э-РОН $\leq 50\%$, n=24	Э-РОН 50–70%, n=41	Э-РОН $\geq 70\%$, n=10
Лимфоциты, %	25,10 \pm 7,85	24,30 \pm 6,17	25,00 \pm 14,49
Т-лимфоциты, %	70,80 \pm 3,19	74,20 \pm 5,84	82,80 \pm 5,18
Т-хелперы/индукторы, %	47,40 \pm 9,47	51,80 \pm 4,58	58,20 \pm 11,17
Т-супрессоры/цитотоксические, %	16,90 \pm 3,45	17,80 \pm 5,99	24,60 \pm 11,19
В-лимфоциты, %	11,20 \pm 3,19	10,95 \pm 4,13	8,70 \pm 4,01
НК-клетки, %	10,70 \pm 2,11	9,45 \pm 2,15	8,10 \pm 1,52
Фагоцитоз нейтрофилов, %	61,20 \pm 16,47	65,90 \pm 14,87	69,80 \pm 16,95

Установлено, что субпопуляция В-лимфоцитов и НК-клеток, наоборот, имела тенденцию к уменьшению, особенно при Э-РОН $\geq 70\%$. Следует отметить, что НК-клеткам принадлежит основная роль в противовирусном, противоопухолевом иммунном ответе [8]. Отсутствие изменений абсолютного количества В-лимфоцитов и НК-

клеток в зависимости от процента розеткообразующих нейтрофилов, а относительного количества – даже уменьшение свидетельствует, скорее всего, о том, что у этих субпопуляций специфические механизмы вовлечения в иммунный ответ, которые запускаются в более поздние стадии каскада иммунных реакций и не имеют общего механизма активации с гранулярными лейкоцитами. Возможно, по принципу положительной обратной связи увеличение одних иммунокомпетентных (Т-лимфоцитов) клеток и уменьшение других (НК-клеток и В-лимфоцитов) зависит от рецепторной активности нейтрофильных гранулоцитов.

Заключение. Исходя из проведенных исследований анализа показателей иммунограмм собак в зависимости от различного содержания розеткообразующих нейтрофилов (Э-РОН), установлено, что у около 55% собак относительное количество таких клеток находится в пределах 50–70%. Увеличение количества поверхностных рецепторов на нейтрофилах сопровождается уменьшением количества В-лимфоцитов и НК-клеток. В то же время абсолютное и относительное количество Т-лимфоцитов, а также фагоцитарная активность нейтрофилов возрастает.

Полученные данные могут быть использованы в интерпретации показателей иммунограмм в клинической ветеринарной практике мелких домашних животных при оценке иммунофизиологической реактивности организма и проведении иммунотерапевтического лечения.

Литература. 1. *Stray animal control practices (Europe). A report into the strategies for controlling stray dog and cat populations adopted in thirty-one countries, [Электронный ресурс] / Louisa Tasker // WSPA, RSPCA International. — 2007. — Режим доступа до праці: <http://feralan.narod.ru/solutions/europe.htm>. 2. Донник И. М. Экология и здоровье животных / И. М. Донник, П. Н. Смирнов. — Екатеринбург : УТК, 2001. — 331 с. 3. Касимова, Н.Б., Буркин, В.С. Способ оценки непрямого антигеноспецифического розеткообразования нейтрофилов при астраханской лихорадке и вирусном гепатите / Касимова, Н.Б., Буркин, В.С. — В RU(11)2239191(13)С2 (51)7G01N33/536 2004.10.27.4. Новиков, Д.К. Медицинская иммунология / Д.К. Новиков // Минск.: «Высшая школа». 2005. — С. 116–119. 5. Покровский, В.И. Приобретенный иммунитет и инфекционный процесс / В.И. Покровский, М.М. Авербах, В.И. Литвинов, И.В. Рубцов // М.: Медицина, 1979. — С. 189–213. 6. Ройт, А. Основы иммунологии / А. Ройт // М.: Эксмо, 1996. — С. 127–167. 7. Хаитов, Р. М. Иммунология / Р.М. Хаитов, Г.А. Игнатова, И.Г. Сидорович // М.: Эксмо, 2000. — С. 57–64. 8. Ярилин, А.А. Иммунология / А.А. Ярилин // М.: Медицина, 1999. — С. 76–83. 9. Новиков, Д. К. Оценка иммунного статуса / Д.К. Новиков, В.И. Новикова // Витебск–Москва: Высшая школа, 1996. — С. 90–97. 10. Лебедев, К.А. Иммунология образраспознающих рецепторов: Интегральная иммунология / К. А. Лебедев, И.Д. Понякина // М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2013. — 256 с. 11. Дрожжина, Г. И. Состояние иммунологической реактивности организма у больных с наследственными стромальными дистрофиями роговицы и ее особенности при наличии воспалительного компонента / Г.И. Дрожжина, Т.В. Дегтяренко // Офтальмологичний журнал. — 2004. — №5. — С. 10–16. 12. Влізло, В.В. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / В.В. Влізло // Львів: СПОЛОМ, 2012. — С. 234–237.*

Статья передана в печать 02.04.2015 г.

УДК: 637.56.04/07

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА И ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ НЕЛЬМЫ (*STENODUS LEUCICHTHYS NELMA* (PALLAS)), ВЫЛАВЛИВАЕМОЙ В НИЗОВЬЯХ АКВАТОРИИ РЕКИ ЕНИСЕЙ

*Гнедов А.А., **Кайзер А.А.

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

**ФГБНУ «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства и экологии Арктики», г. Норильск, Российская Федерация

*Приведены результаты биохимических исследований в образцах продукции, получаемой от нельмы (*Stenodus leucichthys nelma* (Pallas)), обитающей в низовьях бассейна р. Енисей. Определено содержание широкого спектра биологически активных веществ, включающих в себя макро- и микроэлементы, жирные кислоты, аминокислоты и витамины.*

Определена пищевая ценность мяса нельмы в соответствии с общепринятыми ее составляющими: энергетическая ценность, биологическая ценность, биологическая эффективность, физиологическая ценность.

*The Brought results of the biochemical studies in sample of the product, got from sheefish (*Stenodus leucichthys nelma* (Pallas)), dwelling in lower reached of the pool r. Enisey. The content of a wide range of biologically active substances, including the macro-and micronutrients, fatty acids, amino acids and vitamins.*

Determined the nutritional value of meat nelmy in accordance with generally accepted its components: energy value, bioavailability, biological efficiency, physiological value.

Ключевые слова: рыбы, Енисей, аминокислоты, жирные кислоты, витамины, минеральные вещества.
Keywords: fish, Yenisey, amino acids, fatty acids, vitamins, and minerals.

Введение. Нельма (*Stenodus leucichthys nelma* (Pallas)) распространена в широком ареале - обитает циркумполярно в бассейнах северных рек Европы, Сибири и Северной Америки. Подвид, обитающий в бассейне р. Волги - белорыбица (*Stenodus leucichthys leucichthys* (Guldenstadt)) [1].

По образу жизни нельма является проходной рыбой, но в р. Енисей образовалась жилая форма [2].

Нельма - самая крупная рыба из семейства сиговых с максимальной длиной тела 150 см и массой 28 кг (редко до 40 кг). Половозрелой становится в возрасте 8-14 лет при достижении длины 65-75 см и массы 4-5 кг.

В виде прилова вылавливается в разном возрасте и различного размера - как половозрелая, так и неполовозрелая. Обычные средние промысловые размеры - 60-70 см и масса 3-10 кг. Рыбы старше 25 лет в р. Енисей встречаются редко.

От представителей многочисленного семейства сиговых нельма отличается большим, косым, конечно-верхним ртом с многочисленными мелкими зубами, удлинённой нижней челюстью. Сочленение нижней челюсти находится за задним краем глаза. Нижняя челюсть выдается вперед. Спереди она круто загибается вверх, образуя крюк, который входит в выемку на верхней челюсти. Зубы имеются на челюстях, сошнике, небных костях и языке.

Строение и химический состав мяса промысловых видов рыб низовий бассейна р. Енисей не одинаковы. Отличия присущи как видам, относящимся к одному семейству, так и представителям одного вида, но находящимся в разных условиях обитания. Поэтому характеристики пищевой и биологической ценности этих видов так же отличаются.

В научной литературе встречаются данные о пищевой ценности нельмы из бассейнов рек Волга и Обь. Но данных по нельме, вылавливаемой в низовьях бассейна р. Енисей, в доступных источниках не зарегистрировано. Актуальность работы характеризуется новизной проведенных нами исследований.

Цель работы: изучить биохимические показатели и пищевую ценность мяса нельмы, вылавливаемой в низовьях бассейна р. Енисей.

Материал и методы исследований. Исследования проводили на промысловых точках в низовьях бассейна р. Енисей: п. Воронцово, п. Караул, п. Носок, п. Усть-Порт. Отбор образцов продукции проводили методом выборки из каждой партии характерных мерных экземпляров, согласно ГОСТ 7631-2008 «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей». Все образцы рыбной продукции были измерены и взвешены, согласно ГОСТ 1368-2003 «Рыба. Длина и масса». Отобранные экземпляры рыб были разделаны для определения массового состава (Шевченко В.В., 2006). Полученные части рыб объединили в однородные партии и привели к средней пробе каждого вида, согласно ГОСТ 31339-2006 «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб». Из каждой средней пробы выделили средний образец [3,4,5,6].

Отобранные образцы после измельчения и гомогенизации высушили при температуре +45 °С с использованием ИК-установки - СКВ 04.00.000. Полученную сухую массу измельчили на истирателе УХЛ-4 до получения мелкодисперсного нативного порошка с размером частиц до 0,07–0,04 мм. Биохимические исследования проводили в аккредитованной лаборатории биохимии СибНИПТИЖ г. Новосибирска.

Химический состав мяса рыбы определяли по комплексу методов: жир - по Сокслету, общий белок – модифицированным методом Кьельдаля.

Физико-химические свойства образцов проводили по методикам общего зооанализа, согласно ГОСТ 7636-85 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа» и ГОСТ Р 52421-2005 «Рыба, морепродукты и продукция из них. Метод определения массовой доли белка, жира, воды, фосфора, кальция и золы». Макро-, микроэлементный и биохимический состав определяли атомно-абсорбционным методом, на приборе Perkin Elmer – 306.

Определение аминокислотного и витаминного состава проводили методом инфракрасной спектроскопии на автоматическом многофункциональном анализаторе инфракрасной области спектра «IK 4500».

Обработку данных проводили по методике А.Н. Плохинского (1969) с использованием пакетов прикладных компьютерных программ STAT 1, а также встроенных функций пакета MS Excel [8].

По результатам исследований проведен расширенный анализ биохимических показателей, отражающих пищевую ценность мяса нельмы:

- энергетическая ценность - суммарное количество энергии, используемой для поддержания физиологических функций организма и выделяемое при биологическом окислении питательных веществ, содержащихся в 100 г продукта;

- биологическая ценность - отражает качество белка, по сбалансированности его аминокислотного состава относительно идеальной шкалы аминокислот гипотетического белка (ФАО/ВОЗ), и способности к оптимальной усвояемости организмом;

- биологическая эффективность - показатель качества жировых компонентов продукта, отражающий содержание в них полиненасыщенных (незаменимых) жирных кислот;

- физиологическая ценность - характеризует способность составных компонентов стимулировать и активизировать основные процессы жизнеобеспечения физиологических систем организма с помощью активных веществ: макро-, микроэлементы, витамины, азотистые вещества и ферменты.

Полученные результаты химического состава мяса исследованных видов рыб подвергнуты анализу на предмет оценки их пищевой и биологической ценности по методикам А.А. Покровского (1974).

Результаты исследований. На основании изучения степени посмертного окоченения путем измерения угла прогиба определены сроки хранения рыбы при различной температуре на открытом воздухе. Для каждого вида, в силу индивидуальных особенностей, время хранения на открытом воздухе разное (таблица 1).

На время хранения рыбы на открытом воздухе существенно влияют индивидуальные характеристики: содержание жира в мышцах, влагонасыщенность, физическое состояние при вылове, степень механических повреждений и другие.

Таблица 1 - Время хранения рыб низовий бассейна р. Енисей на открытом воздухе, ч

Вид	Температура окружающей среды, 0С		
	+10	+5	0
Нельма	3-5	10-17	35

В связи с ограниченностью лимита времени на сохранение первоначального качества рыбы, докамеральная обработка производилась в течение 5 часов после вылова. Рыбы р. Енисей достигают половой зрелости позднее своих видовых сородичей, обитающих в более теплых водоемах. Следовательно, линейный рост у них замедлен [7]. Морфометрические показатели фактически вылавливаемой нельмы – длина и масса – с учетом возраста достижения промысловых размеров, приведены к среднему показателю (таблица 2).

Таблица 2 - Средний промысловый размер и масса нельмы низовий бассейна р. Енисей

n	Размер, см M±m	Масса, г M±m
21	75±4,2	5980±320

Непосредственно производственный интерес представляют данные о массовом составе нельмы, вылавливаемой в низовьях р. Енисей. Массовый состав – соотношение массы отдельных частей тела и органов, выраженное в процентах от массы целой рыбы. Массовый состав позволяет прогнозировать способы их глубокой переработки (таблица 3).

Таблица 3 - Массовый состав нельмы низовий бассейна р. Енисей, %

n	Мясо с кожей	Чешуя	Голова	Кости, плавники	Внутренности		
					Кишечник, пленки, плавательный пузырь, почки	Гонады	Печень
21	72,3±7,1	1,8±0,4	8,7±1,9	9,9±1,3	6,9±1,8	1,7±0,4	1,3±0,3

Выход мяса рыб средних размеров составляет около 70 %. По мере роста этот показатель увеличивается. Средняя величина головы у нельмы промысловых размеров – 7-9 %. У мелких особей массовая доля головы может составлять более 10 %.

Доля несъедобной части внутренностей составляет 5-8 %. Этот показатель стабилен практически в любом возрасте нельмы. Только у максимально больших по величине рыб он несколько меньше. Не используемый в промышленной переработке нутряной жир нельмы в общей массе внутренностей иногда составляет более 30 %. В сравнении с другими представителями сиговых нельма обладает крупной печенью – до 2 % от общей массы. Но в переработке печень не используется. В связи с тем, что нельма вылавливается нецеленаправленно, особи с созревшими гонадами попадаются крайне редко. Но в нерестовой кондиции средняя величина ястыков с икрой составляет 1,2-2 %. К важнейшим показателям биохимического состава относятся содержание жира, белка, наличие биологически активных веществ – макро- и микроэлементов, жирных кислот, аминокислот и витаминов. Белок и жиры в различных видах рыб составляют основную структурную массу, а их количество характеризует величину энергетической ценности (таблица 4) [8].

Таблица 4 - Состав и энергетическая ценность мяса нельмы низовий бассейна р. Енисей

Показатели	Количество, г/100г	Энергетический коэффициент, ккал/г	Энергетическая ценность компонентов, ккал/100г
Белок	73,43±0,62	4	293,72±0,89
Жир	15,11±0,21	9	135,99±0,67
Энергетическая ценность рыбы, ккал/100г			429,71±0,78

Энергетическая ценность мяса нельмы позволяет отнести его к высококалорийным продуктам. А по содержанию белка и жира – к высокобелковым, особожирным видам рыб. Отношение белка к жиру составило 4,9. Оценка качества белка является основным критерием для определения полноценности продукта. Для определения биологической ценности был исследован аминокислотный состав мяса нельмы. Определено 16 аминокислот (таблица 5).

Таблица 5 - Аминокислотный состав мяса нельмы низовий бассейна р. Енисей, г/100 г

Аминокислота	Содержание
Триптофан	0,82
Оксипролин	0,082
Изолейцин	3,28
Треонин	2,29
Серин	1,91
Глицин	3,02
Аланин	3,96
Валин	3,40
Метионин	1,43
Метион. + цистин	3,95
Лейцин	6,28
Глутамин	7,38
Пролин	1,85
Фенилаланин	1,84
Лизин	5,46
Аргинин	3,47
Сумма незаменимых кислот	28,75
Сумма заменимых кислот	23,1

Аминокислотный состав белка мышечной ткани определяет биологическую полноценность мяса. Существенное значение имеет количественное и качественное соотношение содержащихся в продукте незаменимых и заменимых аминокислот. Этот показатель составил 1,24 – соотношение, характерное для мяса млекопитающих, что уже указывает на предпочтительный белковый баланс.

Для выяснения достоверности такого вывода проведено изучение биологической ценности мяса нельмы в сравнительном аспекте по качественному белковому показателю (КБП) и аминокислотному SKOPy.

Величина качественного белкового показателя (КБП) – это отношение количества триптофана к оксипролину. Этот метод позволяет определить соотношение мышечных и соединительно-тканых белков. Известно, что все мышечные белки содержат триптофан, отсутствующий в соединительной ткани, при этом в коллагене присутствует до 14 % заменимой аминокислоты - оксипролина, отсутствующего в полноценных белках мяса.

Поэтому считается, что чем выше полученное значение, тем качественнее мясо. Если ориентироваться на аналоги, соответствующие мясу млекопитающих, то этот показатель составляет 12,0 – 15,0.

Данные по качественному белковому показателю мяса нельмы приведены в таблице 6.

Таблица 6 - Качественный белковый показатель (КБП) мяса нельмы низовой бассейна р. Енисей

Триптофан	Оксипролин	КБП
0,82	0,082	10

Анализируя полученный качественный белковый показатель, можно сделать положительный вывод о сбалансированности и наличии мышечных волокон – величина достаточно высокая.

Среди химических методов, определяющих биологическую ценность продукта, наиболее показателен метод аминокислотного SKOPa (scog — счет, подсчет). Суть метода – сравнение (отношение) аминокислотного состава белка оцениваемого продукта с аминокислотным составом стандартного (идеального) белка.

Аминокислотный SKOP определяют для каждой незаменимой аминокислоты (таблица 7).

Таблица 7 - Аминокислотный SKOP мяса нельмы низовой бассейна р. Енисей

Аминокислота	Идеальный белок FAO/ВОЗ		Мясо нельмы	
	г/100 г белка	SKOP, %	г/100 г белка	SKOP, %
Триптофан	1,0	100	0,82	82,0
Изолейцин	4,0	100	3,28	82,0
Треонин	4,0	100	2,29	57,25
Валин	5,0	100	3,40	68,0
Метионин+цистин	3,5	100	5,38	153,71
Лейцин	7,0	100	6,28	89,71
Фенилаланин+тирозин	6,0	100	1,84	30,67
Лизин	5,5	100	5,46	99,09
Сумма	36,0	100	28,75	79,86

Результаты подсчета аминокислотного SKOPa указывают на пониженную биологическую ценность мяса нельмы, относительно эталона – сумма и SKOP почти всех аминокислот имеют показатели несколько ниже аналоговых. Тем не менее, этот показатель не является низким. Комплекс «метионин+цистин» значительно выше эталона, а триптофан, изолейцин, лейцин и лизин – близки к эталонному значению.

Высокомолекулярные жирные кислоты, в молекулах которых содержится не менее двух двойных связей, не могут синтезироваться в организме человека и должны поступать с пищей. К ним относятся линолевая, линоленовая, арахионовая кислоты и другие. Рыба отличается большим содержанием этих незаменимых и других ненасыщенных жирных кислот.

Биологическая эффективность просчитывается на основании содержания жирных кислот (таблица 8).

Таблица 8 - Содержание жирных кислот в мясе нельмы низовой бассейна р. Енисей, мг/100г

Жирные кислоты	Содержание
Пальмитоолеиновая	1,78±0,02
Олеиновая	7,00±0,06
Линолевая	1,13±0,01
Линоленовая	0,1±0,01
Сумма ненасыщенных кислот	10,01±0,27
Лауриновая	Следы
Миристиновая	0,31±0,01
Пальмитиновая	2,13±0,27
Стеариновая	1,32±0,09
Арахиновая	0,01±0,01
Сумма насыщенных кислот	3,87±0,22

Репутация нельмы, как рыбы, обладающей исключительными вкусовыми качествами, подтверждается результатами качества жира. Отношение ненасыщенных жирных кислот к насыщенным составило коэффициент 2,6, что указывает на высокую биологическую эффективность.

Для стимулирования и активизирования основных процессов жизнеобеспечения физиологических систем организма, потребляющего рыбу, основную роль играют макро-, микроэлементы, жиро- и водорастворимые витамины, которые способствуют укреплению сердечно-сосудистой системы, нормализации процессов пищеварительной системы, усилению иммунной системы.

В мясе нельмы определен широкий спектр макро- и микроэлементов, комплекса жиро- и водорастворимых витаминов (таблица 9).

Анализ данных показал, что мясо нельмы обладает полным спектром витаминов, макро-, микроэлементов и прекрасно сбалансировано по содержанию этих составляющих, что указывает на хорошую физиологическую ценность.

Заключение. В результате проведенных исследований установлено:

Энергетическая ценность мяса нельмы позволяет отнести его к высококалорийным продуктам. А по содержанию белка и жира - к высокобелковым, особожирным видам рыб.

Мясо нельмы содержит полный спектр жирных кислот, а отношение ненасыщенных жирных кислот к насыщенным составило коэффициент 2,6, что указывает на его высокую биологическую активность.

Биологическая ценность образцов по сумме аминокислотного СКОРа стремится к идеалу – 79,86 %. Отмечается значительное содержание таких аминокислот, как комплекс метионин+цистин (153,7) и лизин (99,09).

Содержание полного комплекса макро-, микроэлементов и витаминов свидетельствует о хорошей физиологической ценности.

В рационе питания мясо нельмы по критериям пищевой ценности может служить полноценным пищевым продуктом.

Таблица 9 - Содержание макро-, микроэлементов, жиро- и водорастворимых витаминов в мясе нельмы низовий бассейна р. Енисей

Показатель	Содержание
Макро- и микроэлементы, мг/кг	
Кальций	1000,00±76
Фосфор	7800,00±300
Калий	15000,00±700
Натрий	2080,00±126
Железо	25,00±1,6
Марганец	1,20±0,07
Медь	1,00±0,03
Цинк	21,0±0,1
Магний	0,76±0,02
Витамины, мг/кг	
А	1,06±0,04
Е	26,67±0,29
В1	10,67±0,32
В2	6,40±0,27
В3	11,96±0,30
В5	81,50±0,78
В6	7,11±0,02
В12, мкг/кг	106,7±1,33

Литература. 1. Берг, Л.С. Рыбы пресных вод СССР и сопредельных стран / Л.С. Берг // М. Л.: Изд-во АН СССР. - 1948. - Ч. - 1. - 466 с. 2. Подлесный, А.В. Рыбы Енисея, условия их обитания и использование / А.В. Подлесный // М. Изв. ВНИОРХ. – 1958. - т. 44. - С. 97-178. 3. ГОСТ 1368-2003 Рыба. Длина и масса. 4. ГОСТ 31339-2006 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб. 5. ГОСТ 7631-2008 Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей. 6. ГОСТ Р 52421-2005 Рыба, морепродукты и продукция из них. Метод определения массовой доли белка, жира, воды, фосфора, кальция и золы. 7. Моисеев, П.А. Ихтиология / П.А. Моисеев, Н.А. Азизова, И.И. Куранова // М. Легкая и пищевая промышленность. - 1981. - 383 с. 8. Плохинский, Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. – М.: Колос, 1969 – 255 с. 9. Родина, Т.Г. справочник по товароведению продовольственных товаров. М. Колос С. - 2003. – 608 с.: ил.

Статья передана в печать 17.03.2015 г.

УДК 637.5'6.04/.07

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА И ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ МЯСА ДОМАШНИХ СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛОВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

*Гнедов А.А., **Кайзер А.А., **Марцеха Е.В.

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

**ФГБНУ «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства и экологии Арктики», г. Норильск, Российская Федерация

Приведены результаты качественных показателей и пищевой ценности мяса от разных половозрастных групп домашних северных оленей. Установлено, что мясо домашнего северного оленя включает в себя целый комплекс биологически активных веществ, содержащий все жизненно необходимые нутриенты, и является полноценным пищевым белковым продуктом для восполнения недостатка основных незаменимых аминокислот в организме человека.

The results of qualitative and nutritional value of meat from different age and sex groups of domesticated reindeer. The Set-listed that the meat of domestic reindeer includes a range of biologically active substances containing all the vital nutrients and is a complete protein food product for Sun-complement lack of basic essential amino acids in the body brow-century.

Ключевые слова: мясо, домашний северный олень, половозрастные группы, пищевая ценность, биологически активные вещества, минеральные элементы, аминокислоты, жирные кислоты, витамины.

Keywords: meat, homemade reindeer, sex and age group, the nutritional value, biologically active substances, mineral elements-you, amino acids, fatty acids, vitamins.

Введение. Рациональное питание - важнейшее условие сохранения здоровья, нормального роста и развития организма человека. По последним данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), состояние здоровья человека лишь на 15 % зависит от организации медицинской службы, настолько же – от генетических особенностей, но на 70 % - от образа жизни и питания. В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что полноценное питание определяется не только энергетической ценностью пищи, сбалансированностью рациона по белкам, жирам и углеводам, но и обеспеченностью витаминами, микроэлементами и минералами. Витаминодефицитные состояния рассматриваются Всемирной организацией здравоохранения, в том числе и как проблема голодания.

Территория Крайнего Севера обладает огромными биоресурсами, которые используются в настоящее время лишь частично. Суровые природно-климатические условия, особенности сельскохозяйственного производства и национальная принадлежность местного населения определяет сферу приложения труда и хозяйственного развития Северных регионов. Основными отраслями традиционного природопользования являются: домашнее оленеводство, рыболовство и промысел дикого северного оленя.

В настоящее время домашнее оленеводство Таймыра сосредоточено в 11 фермерско-родовых и индивидуальных хозяйствах, в которых суммарно насчитывается около 90 тысяч голов животных. Среднегодовое поступление мяса оленя от хозяйств района составляет около 200 т.

Доказано, что питательные свойства оленьего мяса превосходят по своим показателям мясо других видов сельскохозяйственных животных. Не случайно во всех странах, на территории которых имеются субарктические районы - Россия, Финляндия, Норвегия, Швеция, Канада, проявляется большой интерес к продукции, получаемой от северного оленя.

Опыт показывает, что наибольшей живой массы, как взрослые олени, так и телята достигают в октябре. К этому времени в органах и тканях проявляется наивысшая калорийность и пик накопления биологически активных веществ. В более поздние сроки питательная ценность оленины резко снижается. Грамотная организация уоя животных является гарантией заготовки качественного сырья.

К сожалению, в настоящее время мало внимания уделяется изучению качества мясной продукции в аспекте определения пищевой ценности по половозрастным группам оленей.

Цель работы: изучить морфологический и биохимический состав мяса от разных половозрастных групп домашних северных оленей.

Материал и методы исследований. Научно-хозяйственные опыты и сбор образцов биологического материала проводили в оленеводческих хозяйствах Таймырского Долгано-Ненецкого муниципального района.

Отбор образцов сырья от уоя домашних северных оленей производили согласно ГОСТ Р 51447-99 «Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб» [1].

Консервирование производили методом инфракрасной сушки при температуре + 45 °С с последующим измельчением для получения нативного порошка с размерами частиц до 0,07–0,04 мм.

Биохимические исследования полученного сырья проводили на современном аналитическом оборудовании в лаборатории биохимии СибНИПТИП г. Новосибирска. Обработку данных проводили по методике А.Н. Плохинского (1969) с использованием пакетов прикладных компьютерных программ STAT 1, а также встроенных функций пакета MS Excel [2].

Результаты исследований. Мясо – основной поставщик белков, поскольку содержит жизненно необходимые для построения тканей организма человека аминокислоты, которые удачно сбалансированы и обеспечивают полный синтез тканевых белков.

Находящиеся в мясе жиры обуславливают высокую энергетическую ценность мясных продуктов, участвуют в образовании их аромата и вкуса и содержат в достаточном количестве полиненасыщенные

жирные кислоты. В мышечной ткани имеются экстрактивные вещества, участвующие в образовании вкуса мясных продуктов и относящиеся к энергичным возбудителям секреции желудочных желез [3].

Согласно цели исследований, нами проведено изучение морфобиохимических показателей мяса домашнего северного оленя в зависимости от пола и возраста животных. К важнейшим показателям биохимического состава относятся содержание жира, белка, наличие биологически активных веществ - макро- и микроэлементы, жирные кислоты, аминокислоты и витамины. Белок и жиры составляют основную структурную массу, а их количество характеризует величину энергетической ценности (таблица 1).

Таблица 1 - Показатели общего зоотехнического анализа мяса домашних северных оленей в зависимости от пола и возраста (M±m)

Показатели	Телята		Молодняк		Взрослые		Кастраты
	самец	самка	самец	самка	самец	самка	
Вода, %	72,43±0,13	73,35±0,21	72,09±0,11	72,34±0,17	71,62±0,22	70,63±0,40	71,73±0,65
Белок, %	22,13±0,26	21,15±0,13	22,11±0,19	21,79±0,23	21,82±0,31	22,18±0,19	20,16±0,49
Жир, %	4,42±0,37	4,40±0,63	4,68±0,38	4,71±0,48	5,32±0,29	5,87±0,52	6,83±0,93
Зола, %	1,02±0,19	1,10±0,25	1,12±0,09	1,16±0,13	1,24±0,16	1,32±0,14	1,28±0,17

В результате исследований установлено, что существенных различий в показателях не отмечается. Регистрируется незначительное увеличение белка у самок по сравнению с самцами.

При изучении убойного выхода установлено, что убойный выход, химический и морфологический состав мяса домашнего северного оленя находятся в зависимости от пола, возраста и упитанности животных. Убойный выход представлен в таблице 2.

Таблица 2 - Убойный выход мяса домашних северных оленей средней упитанности в % к живой массе в зависимости от пола и возраста (M±m)

Половозрастная группа	Показатели мясной продуктивности		
	живая масса, кг	масса туши, кг	убойный выход, %
Самцы			
Телята	55,16±0,45	28,58±0,56	51,81±0,15
Молодняк	75,66±0,91	38,80±0,52	51,28±0,12
Взрослые	109,45±1,60	56,61±0,89	51,72±0,14
Быки-кастраты	108,60±2,37	55,43±1,07	51,04±0,21
Самки			
Телята	51,04±0,47	25,89±0,22	50,72±0,23
Молодняк	71,24±0,67	35,70±0,41	50,11±0,14
Взрослые	83,72±1,34	42,53±0,82	50,80±0,24

Более высокую массу туши обеспечили различия в живой массе животных, которая обусловлена специфичностью полового диморфизма и возраста животных. Самцы превосходят самок не только по живой и убойной массе, но и по убойному выходу.

Важную роль играют витамины для поддержания высокой устойчивости человека к неблагоприятным факторам внешней среды и инфекционному началу, благодаря чему они могут использоваться как профилактическое средство при воздействии химических веществ, ионизирующей радиации [4].

В мясе северного оленя наиболее ярко выражена группа витамина В (таблица 3).

Таблица 3 - Содержание витаминов в мясе различных половозрастных групп домашнего северного оленя, мг/кг

Показатели	Телята		Молодняк		Взрослые		
	самец	самка	самец	самка	самка	самец	кастраты
Е	5,41±0,14	5,52±0,09	5,62±0,07	5,23±0,10	5,79±0,10	5,50±0,06	5,55±0,09
В1	1,16±0,03	1,19±0,02	1,23±0,01	1,18±0,02	1,24±0,02	1,18±0,01	1,12±0,03
В2	1,67±0,04	1,74±0,03	1,81±0,02	1,71±0,03	1,91±0,03	1,72±0,02	1,79±0,04
В3	5,04±0,11	5,08±0,08	5,17±0,05	4,96±0,08	5,30±0,09	5,8±0,05	5,12±0,11
В5	56,22±1,27	55,02±2,12	59,11±0,57	55,57±0,92	59,45±1,10	55,57±1,42	57,98±1,21
В6	2,25±0,06	2,27±0,04	2,45±0,06	2,31±0,04	2,38±0,04	2,56±0,03	2,32±0,07
В12	0,27±0,07	0,27±0,04	0,29±0,02	0,27±0,05	0,29±0,05	0,28±0,03	0,29±0,03

При проведении анализа полученных результатов установлено, что суммарная концентрация витаминов в группе телят у самцов составляет 72,04 мг/кг, самок 71,09 мг/кг, в группе молодняка 75,54 и 71,23 мг/кг у самцов и самок соответственно. В мясе взрослых животных этот показатель составил 76,35, 71,77 и 74,17 мг/кг у самок, самцов и кастратов соответственно.

При сравнении половозрастных групп выявлено преобладание витаминов в мясе самок, как в молодом возрасте, так и в дальнейшем развитии.

Мясо домашних северных оленей является полноценным биологическим продуктом не только в отношении белков, жиров, витаминов, но и по наличию макро- и микроэлементов, необходимых в питании человека [5].

В соответствии с полученными данными очевидно, что наиболее распространенными микроэлементами являются железо и цинк, из макроэлементов – калий, натрий и магний (таблица 4).

Таблица 4 - Минеральный состав мяса различных половозрастных групп домашнего северного оленя

Показатель	Телята		Молодняк		Взрослые		
	самец	самка	самец	самка	самка	самец	кастраты
Макроэлементы, г/кг							
Кальций	1,30±0,04	1,50±0,02	1,50±0,04	1,20±0,02	1,30±0,03	2,20±0,08	1,70±0,05
Фосфор	7,80±0,03	7,90±0,05	7,00±0,11	7,70±0,03	6,60±0,09	7,30±0,02	7,00±0,12
Калий,	12,95±0,6	13,12±0,5	11,63±0,38	13,51±0,43	12,71±0,4	13,92±0,33	12,82±0,4
Натрий	2,83±0,15	2,86±0,15	2,67±0,15	2,75±0,11	2,76±0,12	2,83±0,06	2,79±0,11
Магний	1,25±0,07	1,23±0,11	1,18±0,13	1,25±0,12	1,17±0,11	1,23±0,06	1,19±0,11
Микроэлементы, мг/кг							
Железо	183,25±18,1	255,25±46,6	161,67±12,65	178,5±13,8	187,92±16,9	191,4±15,8	189,21±13,12
Марганец	2,25±0,36	2,39±0,23	1,87±0,19	2,22±0,29	2,63±0,42	2,37±0,30	2,46±0,17
Медь	5,43±0,87	5,36±0,75	4,03±0,47	4,91±0,65	5,47±0,50	5,16±0,58	5,33±0,41
Цинк	99,59±10,34	99,13±11,11	86,25±9,51	96,73±8,21	103,50±8,5	109,67±8,81	106,20±7,23

Анализ показывает, что с возрастом животных отмечается увеличение содержания в мясе макро- и микроэлементов, причем преобладают образцы самцовых групп.

Результаты исследований аминокислотного состава мяса домашнего северного оленя разных половозрастных групп приведены в таблице 5.

Таблица 5 - Аминокислотный состав мяса различных половозрастных групп домашнего северного оленя, г/100 г

Аминокислота	Телята		Молодняк		Взрослые		
	самец	самка	самец	самка	самка	самец	кастраты
Триптофан	0,71±0,03	0,75±0,11	0,72±0,11	0,79±0,12	0,79±0,012	0,84±0,11	0,82±0,13
Оксипролин	0,52±0,006	0,52±0,008	0,55±0,01	0,52±0,004	0,54±0,01	0,52±0,01	0,52±0,07
Изолейцин	3,87±0,11	3,85±0,10	3,92±0,16	3,85±0,18	3,36±0,19	3,94±0,17	3,89±0,26
Треонин	3,20±0,06	3,30±0,07	3,14±0,05	3,19±0,05	3,11±0,06	3,29±0,05	3,23±0,19
Серин	2,38±0,03	2,33±0,05	2,51±0,13	2,36±0,12	2,49±0,17	2,33±0,13	2,41±0,11
Глицин	3,75±0,13	3,66±0,15	4,03±0,15	3,74±0,13	3,83±0,17	3,66±0,14	3,73±0,18
Аланин	3,16±0,12	3,19±0,14	3,47±0,15	3,12±0,19	3,38±0,17	3,17±0,13	3,41±0,15
Валин	4,33±0,16	4,20±1,07	4,55±0,07	4,32±0,15	4,46±0,10	4,23±0,07	4,32±0,21
Метионин	1,35±0,13	1,36±0,12	1,31±0,22	1,33±0,12	1,34±0,14	1,36±0,19	1,35±0,17
Метион+цистин	2,48±0,15	2,53±0,24	2,45±0,14	2,49±0,23	2,44±0,25	2,54±0,23	2,49±0,19
Лейцин	6,81±0,54	7,32±1,16	7,96±1,11	6,84±0,92	7,88±0,87	7,30±1,13	7,99±1,09
Глутамин	6,82±1,07	6,63±1,14	7,19±1,11	6,81±1,06	6,98±1,16	6,69±1,10	6,76±1,21
Пролин	3,89±0,11	3,67±0,17	3,86±0,16	3,84±0,09	4,18±0,24	3,55±0,12	3,87±0,33
Фенилаланин	3,47±0,45	3,37±0,37	3,68±0,56	3,46±0,64	3,56±0,49	3,35±0,44	3,52±0,25
Лизин	4,69±0,18	4,76±0,15	4,64±0,26	4,68±0,17	4,69±0,18	4,75±0,04	4,72±0,23
Аргинин	4,16±0,25	4,28±0,11	4,46±0,17	4,59±0,19	4,26±0,14	4,27±0,18	4,25±0,19
Сумма незаменимых кислот	30,91±0,59	31,45±0,45	32,37±0,13	30,95±0,43	31,63±0,44	31,60±0,22	32,33±0,48
Сумма заменимых кислот	24,68±0,30	24,27±0,38	26,07±0,27	24,98±0,23	25,66±0,37	24,19±0,27	24,82±0,33

Аминокислотный состав белка мышечной ткани определяет биологическую полноценность мяса. Существенное значение имеет количественное и качественное соотношение содержащихся в продукте незаменимых и заменимых аминокислот. Поскольку аминокислотный состав белков мяса домашнего северного оленя меняется в зависимости от пола, возраста и физиологического состояния животного, нами определены средние показатели для каждого из них.

В результате проведенных исследований установлено, что суммарная концентрация аминокислот в группе телят в мясе у самцов составила 55,59±0,70 %, самок - 55,72±0,81 %, у молодняка 58,44±0,23 против 55,93±0,53 % самцов и самок соответственно. У группы взрослых животных данный показатель в тушах составил 57,29±0,79 %, 55,79±0,49 и 57,15±2,04 % у самок, самцов и кастратов соответственно. Отмечается несущественное увеличение аминокислот с возрастом животных.

Анализируя табличные данные, можно сказать, что во всех образцах мяса преобладают незаменимые аминокислоты. Содержание незаменимых аминокислот изменялось от 30,90 до 32,37 %, заменимых – от 24,19 до 26,07 %. Наибольшее количество незаменимых аминокислот содержалось в мясе молодых самцов домашнего северного оленя – 32,37 % и кастратов 32,33 %, наименьшее значение имели самки молодняка – 30,95 %.

Известно, что биологическая ценность продукта характеризует его оптимальную физиологическую полезность, соответствие нормальным потребностям организма человека с учетом органолептических и физико-химических показателей, включая такие свойства пищевых продуктов, как безвредность и питательность. В ряде работ утверждается, что биологическая ценность пищевых продуктов определяется аминокислотным составом белков или соотношением незаменимых и заменимых аминокислот [6].

ФАО/ВОЗ утвердила положение о том, что для оценки биологической ценности пищевых продуктов необходимо знать их химический СКОР, определяемый соотношением количества аминокислот в 100 г данного белка к аминокислотам в 100 г стандартного (идеального) белка.

Исходя из этого, нами проведено изучение биологической ценности мяса домашнего северного оленя в сравнительном аспекте по качественному белковому показателю (КБП) и аминокислотному СКОРУ.

Величина качественного белкового показателя (КБП) – это отношение количества триптофана к оксипролину. Этот метод позволяет определить соотношение мышечных и соединительно-тканых белков. Известно, что все мышечные белки содержат триптофан, отсутствующий в соединительной ткани, при этом в коллагене присутствует до 14 % заменимой аминокислоты - оксипролина, отсутствующего в полноценных белках мяса.

Поэтому считается, что чем выше значение КБП, тем качественнее мясо. Данные по качественному белковому показателю мяса домашнего северного оленя (КБП) приведены в таблице 6.

Как видно из полученных данных, существенных различий по качественному белковому показателю нет. Самое высокое значение КБП отмечается в группе самцов. Наивысший показатель зарегистрирован у взрослых самцов – 16,15, т. е. мышечные белки преобладают над соединительно-ткаными белками. В группе самок у взрослых животных этот показатель был незначительно выше, чем у молодняка, и составил 14,63 против 13,09 - у молодняка.

Таблица 6 - Качественный белковый показатель (КБП) мяса домашнего северного оленя

Аминокислота	Самцы			Самки	
	молодняк	взрослые	кастраты	молодняк	взрослые
Триптофан	0,79	0,84	0,82	0,72	0,79
Оксипролин	0,052	0,052	0,052	0,055	0,054
КБП	15,19	16,15	15,77	13,09	14,63

Результаты расчета аминокислотного СКОРа, являющегося одним из критериев оценки биологической ценности пищевого продукта, приведены в таблице 7.

Проведенными исследованиями установлено, что из 8 аминокислот, отвечающих требованиям ФАО/ВОЗ, в мясе молодняка самок их содержится 5, молодых самцов – 5, взрослых самцов – 7, самок - 5 и быков кастратов – 6. Результаты исследований позволяют заключить, что по содержанию незаменимых аминокислот мясо домашнего северного оленя можно отнести к хорошо сбалансированному пищевому продукту.

Таблица 7 - Аминокислотный СКОР мяса домашнего северного оленя

Аминокислота	Содержание идеальном белке (ФАО/ВОЗ)	Самцы						Самки			
		молодняк		взрослые		кастраты		молодняк		взрослые	
		г/100г	%								
Триптофан	1,0	0,89	89,00	1,02	102,00	1,00	100,00	0,96	96,00	0,97	97,00
Изолейцин	4,0	4,83	120,75	4,80	120,00	4,75	118,75	4,68	117,00	4,11	102,75
Треонин	4,0	3,87	96,75	4,00	100,0	3,95	96,75	3,88	97,20	3,80	95,00
Валин	5,0	5,60	112,00	5,15	103,00	5,28	105,60	5,25	105,00	5,45	109,00
Метионин+цистин	3,5	4,63	132,28	4,75	135,71	4,69	134,00	4,64	132,57	4,62	132,00
Лейцин	7,0	9,80	140,00	8,89	127,00	9,77	139,57	8,31	118,71	9,63	137,57
Фенилаланин+Тирозин	6,0	4,53	75,50	4,08	68,00	4,30	71,67	4,21	70,17	4,35	72,50
Лизин	5,5	5,71	103,82	5,78	105,09	5,77	104,91	5,69	103,45	5,73	104,18
Сумма	36,00	39,86	110,72	38,47	106,86	39,51	109,75	37,62	104,50	38,66	107,39

Заключение. Проведенный анализ общего биохимического состава показал незначительное различие показателей в половозрастных группах в пользу самок.

Мясо домашнего северного оленя достаточно хорошо сбалансировано по количеству витаминов, преобладание их отмечено в мясе самок и быков-кастратов.

Наибольшее количество незаменимых аминокислот содержалось в мясе молодых самцов дикого северного оленя – 32,37 % и кастратов 32,3 %, наименьшее значение имели самки молодняка – 30,95 %.

По качественному белковому показателю и аминокислотному СКОРУ отмечается превосходство в группе самцов. Так, наибольшее значение по КБП имело мясо взрослых самцов и быков-кастратов – 16,15 и 15,77, по аминокислотному СКОРУ мясо молодых самцов - 39,86 и мясо быков-кастратов - 39,51, затем мясо взрослых самок - 38,66.

Таким образом, установлено, что мясо домашнего северного оленя включает в себя целый комплекс биологически активных веществ, содержащий все жизненно необходимые нутриенты, и является полноценным пищевым белковым продуктом для восполнения недостатка основных незаменимых аминокислот в организме человека.

Литература. 1. ГОСТ Р 51447-99 «Мясо и мясные продукты. Методы отбора проб». 2. Плохинский, Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников. – М.: Колос, 1969 – 255 с. 3. Елисеева, Л.Г. Товароведение и экспертиза продовольственных товаров: Учебник /Под ред. проф. Л.Г. Елисеевой. – М.: МЦФЭР, 2006. 800 с. (Серия «Высшая школа»). 4. Ленинджер, А. «Биохимия», М.: Мир, 1974. – 956 с. 5. Скальный, А.В. / И.А. Рудаков// Биозлементы в медицине. – М.: Мир, 2004. – 271 с. 6. Антипова, Л.В., / И.А. Глотова, И.А. Рогов// Методы исследования мяса и мясных продуктов М.: Колос, 2001. – 376с.

Статья передана в печать 17.03.2015 г.

ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ БЕЛОМЫШЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ У СВИНЕЙ

*Головаха В.И., *Пиддубняк О.В., *Шуляк В.В., **Петренко А.С., ***Паценко Д.А., ***Паценко Е.В.

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

**ГНИИ лабораторной диагностики и ветеринарно-санитарной экспертизы, г. Киев, Украина,

***Компаниевский техникум ветеринарной медицины, Украина

Установлено, что наличие симметричных, безболезненных отеков в области корня хвоста у супоросных свиноматок указывает на нарушение минерально-витаминного обмена, которое приводит к рождению ослабленных поросят и возникновению у них беломышечной болезни. В крови свиноматок обнаружили олигоцитемию, олигохромемию (в 80 %), снижение гематокритной величины, макроцитоз, гипопропротеинемию, гипоальбуминемию, гипербета- и гаммаглобулинемию (у 60 %) и гиперферментемию АсАТ. Беломышечная болезнь у новорожденных поросят проявлялась гипорексией, анемичностью кожи и слизистых оболочек, атаксией, снижением тактильной и болевой чувствительности, у 1-месячных - бронхопневмонией и гастроэнтеритом. У больных поросят установили олигоцитемию, олигохромемию, снижение гематокритной величины (в 100 %), гипохромиею, гипопропротеинемию и гипергаммаглобулинемию (в 60 %). Применение препаратов фероселенита и Е-селена в комплексной схеме лечения поросятам положительно влияет на их общее состояние, рост и развитие, состояние эритроцитопоза и повышает неспецифическую резистентность организма, на что указывают показатели крови.

There was established that the appearance of non-painful edemas in the tale base of the gestating sows indicates the infringement of mineral and vitamin exchange. The mentioned pathology further leads to the birth of the weakened piglets and uprising of the white-muscle disease. The oligocitemy, oligochromemy (in 80% of animals), hematocrite decrease, macrocitosis, hipoproteinemia, hipoaalbuminemia, hyperbeta - and gammaglobulinemia (in 60% of animals) and AsAT hyperfermentemia. White-muscle disease in newborn piglets was manifested by hiporexia, anaemic skin and mucus membranes, ataxia, decreased tactile and pain susceptibility. In one month old piglets there were found bronchopneumonia and gastroenteritis. In all sick animals there were found oligocitemy, oligochromemy, hematocrite decrease (in all animals), hipochromemia, hipoproteinemia, hypergammaglobulinemia (in 60% of animals). The using of Feroselenit and E-selen positively influenced the general condition of piglets, their grows and development, eritropoesi, non-specific resistance of organism that is evident by the changes of the levels in the blood indexes.

Ключевые слова: мясо, пищевая ценность, беломышечная болезнь, гипопропротеинемия, гипергаммаглобулинемия.

Keywords: meat, the nutritional value, White-muscle disease, hipoproteinemia, hypergammaglobulinemia.

Введение. В решении важной проблемы обеспечения человечества продуктами питания ключевая роль отводится свиноводству как наиболее скороспелой отрасли животноводства [1]. Успешное ее ведение зависит от состояния минерально-витаминного обмена [2–4]. Хотя витамины и минеральные вещества не имеют энергетической ценности, однако они играют ведущую роль в метаболических процессах. Изучение природы этих процессов является весьма актуальным, поскольку заболевания обмена веществ у животных, в частности свиней, являются довольно распространенными [5, 6].

К метаболическим заболеваниям принадлежит и беломышечная болезнь. Это тяжелая эндемическая болезнь, которая проявляется в первые недели жизни и характеризуется нарушением обмена веществ, выраженной дистрофией скелетной мускулатуры, миокарда, печени и других органов, снижением неспецифической резистентности организма [7, 8]. Болеет беломышечной болезнью молодняк. Причины заболевания полностью не известны. Большинство ученых считают, что беломышечная болезнь представляет собой специфическое нарушение минерально-витаминного и аминокислотного питания животных [6, 7]. Болезнь может возникнуть на фоне дефицита селена, кобальта, меди, марганца, фосфора, йода, витаминов А, D3, Е, С, В1, аминокислот метионина и цистеина, а также скормливания комбикормов, содержащих продукты окисления липидов. Заболевание в доступной отечественной литературе описано в большей степени у ягнят и телят [5–7]. Что касается свиней, то сведений о клинико-гематологическом статусе животных при беломышечной болезни немного [11–13]. Поэтому целью наших исследований было изучить клинико-гематологический статус свиней при беломышечной болезни и эффективность Е-селена в комплексном ее лечении.

Материал и методы исследований. Объектом исследования были свиноматки украинской белой породы в последний месяц супоросности (их разделили на две группы: первую (клинически здоровые, n=7) и вторую (n=10, животные, у которых у корня хвоста обнаружили безболезненные симметричные отеки подкожной клетчатки – специфический признак болезни)) и поросята от них (от 3-дневного до месячного возраста).

При изучении гематологического статуса кровь у свиноматок отбирали за 30 дней до опороса, у поросят - через 2 недели после рождения. При апробации лечебной схемы с использованием фероселенита и Е-селена, кровь у поросят исследовали на 30 день жизни.

В цельной крови определяли общее количество эритроцитов, содержание гемоглобина, величину гематокрита, вычисляли индексы "красной" крови (МСН, МСV); в сыворотке крови – уровень общего белка, его фракции, количества иммуноглобулинов, содержание мочевины, активность аспарагиновой (АсАТ), аланиновой (АлАТ) аминотрансфераз и гаммаглутамилтранспептидазы (ГТТП). Содержание микроэлементов (Со, Сu, Zn, В)

в почве определяли методом эмиссионно-спектрального анализа на спаренных спектрографах методом трех эталонов с расщеплением на регистрирующем микрофотометре (прибор ААС-30).

Результаты исследований. При исследовании установлено, что причины беломышечной болезни в хозяйстве следующие: чрезмерное протеиновое кормление супоросных свиноматок (рацион обеспечен к. ед. на 129,6 %, сырым протеином – 129,3, переваримым протеином – 143,8, метионином и цистином – 150, лизином на 106,5 %); дефицит макро- и микроэлементов (обеспеченность кальцием составляла 34,5 %, фосфором – 72,8, марганцем – 65,7, медью – 69,3, кобальтом – 7,0, цинком – 82,5 и йодом – 82,0 %).

В почвах местности определяли низкий уровень кобальта 1,76 мг/кг (норма не менее 3), купрума – 2,26 (норма 2,5–4), цинка – 0,33 (не менее 0,5), бора – 1,11 мг/кг (норма не менее 1,5). Дефицит микроэлементов в почве и в рационе в сочетании с избыточным протеиновым кормлением, вероятнее всего, есть ключевой этиологический механизм возникновения беломышечной болезни у свиней хозяйства.

При проведении клинического исследования свиноматки второй группы вечером вяло воспринимали корм. Температура тела, частота дыхания и пульса были в физиологических пределах. Согласно анамнезу, от этих животных рождались ослабленные поросята. Клинически болезнь у новорожденных проявлялась отставанием в росте, угнетением, гипорексией, анемичностью слизистых оболочек и кожи, динамической атоксией во время движения. Поросята большую часть времени лежали, тяжело поднимались, тактильная и болевая чувствительность у животных была снижена.

У месячных поросят обнаружили изменения, характерные для бронхопневмонии. Температура тела у животных была в пределах 40,5–40,9 °С, частота дыхания – 40–65 дых. движений /мин. Из носовых ходов выделялись серозно-слизистые истечения, была установлена смешанная одышка, кашель (вначале сухой, в дальнейшем влажный, глухой). При аускультации легких – мелко- и среднепузырчатые хрипы. У части поросят регистрировали явления гастроэнтерита. Каловые массы у животных были водянистые, в них обнаружили слизь, пленки фибрина, иногда примесь крови. Животные быстро теряли массу тела, у некоторых отмечали западение глазных яблок. Через несколько дней, даже при проведении лечения, поросята погибали.

В ходе патологоанатомического исследования выявили наиболее характерные изменения в скелетной и сердечной мускулатуре, которая была поражена очагово и диффузно. Скелетные мышцы были бледными, дряблой консистенции, с отеками серо-белой или бледно-желтоватой окраски, поверхность их разреза тусклая, имеет вид куриного или рыбьего мяса. В мышцах выявляли серо-белые ленты различной величины и формы, а по ходу мышечных волокон – светлую заштриховку (рисунок 1). При поперечном разрезе длиннейшей мышцы спины отдельные группы мышц имели стертый рисунок, суховатые, серо-желтого цвета (воскообразного). Печень увеличена, особенно у поросят, с явлениями застойной гиперемии. Слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта была отечной и гиперемированной. Мезентериальные лимфатические узлы увеличены, красного цвета.



Рисунок 1 – Серо-белая заштрихованность сердечной мышцы у поросят при беломышечной болезни

При исследовании крови у свиноматок второй группы количество эритроцитов в среднем составляло $5,2 \pm 0,24$ Т/л, что на 24,6 % меньше, чем у клинически здоровых. Олигоцитемия была установлена у 80,0 % животных. Ниже, по сравнению с первой группой, у животных был и уровень гемоглобина. В среднем по группе он составлял $99,9 \pm 2,84$ г/л, что на 22,7 % меньше, чем у клинически здоровых свиноматок (таблица 1).

У двухнедельных поросят количество эритроцитов в среднем по группе составляло $5,1 \pm 0,20$ Т/л (на 22,8 % меньше, по сравнению с клинически здоровыми). Олигоцитемия была обнаружена у всех поросят. Уровень гемоглобина в крови в среднем составлял $84,0 \pm 10,53$ г/л, что на 23,0 % меньше, по сравнению с клинически здоровыми. Олигохромемия установили у 80 % животных (таблица 1).

Гематокритная величина у свиноматок второй группы в среднем была $32,4 \pm 1,05$ %, то есть была достоверно ниже, чем у животных первой, что указывает на развитие у них анемии. У больных поросят значения гематокритной величины тоже были низкие (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели эритроцитов, гемоглобина и гематокритной величины у свиней

Группы животных	Биометрический показатель	Эритроциты, Т/л	Гемоглобин, г/л	Гематокритная величина, %
Свиноматки: - первая (n=7)	Lim	6,14–7,5	118,0–141,0	36,0–40,0
	M±m	6,9±0,22	129,2±4,91	37,8±0,78
- вторая (n=10)	Lim	3,9–6,23	91,0–109,0	28,0–35,0
	M±m	5,2±0,24	99,9±2,84	32,4±1,05
	p<	0,01	0,01	0,05
Поросята: - клинически здоровые (n=10)	Lim	6,1–7,3	96,0–118,0	35,0–37,0
	M±m	6,6±0,25	109,0±3,51	35,8±0,40
- больные (n=10)	Lim	4,6–5,8	55,0–113,0	24,0–34,0
	M±m	5,1±0,20	84,0±10,53	28,4±1,55
	p<	0,01	0,05	0,01

Для определения характера анемии вычисляют индексы "красной" крови – MCH и MCV. Следует отметить, что у больных свиноматок и поросят MCH в среднем не отличался от величин клинически здоровых. Однако у 60 % поросят обнаружили уменьшение MCH – 12,0–15,1 пг (0,74–0,94 фмоль), то есть у большинства поросят проявляется гипохромия, которая, очевидно, обусловлена дефицитом в рационе меди, железа, селена и т.д. Средний объем эритроцитов (MCV) у свиноматок второй группы в среднем составлял 63,0±1,92 мкм³ и был достоверно большим, чем у здоровых, что свидетельствует о наличии макроцитарной анемии. В отличие от свиноматок, у поросят MCV достоверно не отличался от величин клинически здоровых.

Одним из важных показателей неспецифической резистентности организма животных и функционального состояния печени является уровень общего белка в сыворотке крови. У свиноматок второй группы количество его составляло 64,7±2,34 г/л и не отличалось от величин первой. Однако при детальном анализе показателей у 60 % животных 2-й группы установили гипопроотеинемию (ниже 65 г/л). У больных поросят содержание общего белка в среднем было 40,0±1,35 г/л, что значительно ниже, чем у клинически здоровых. Гипопроотеинемию (менее 45 г/л) установили у 60 % поросят.

Если уровень общего белка у свиноматок второй группы не отличался от величин клинически здоровых, то фракционный состав его претерпел определенные изменения. В частности, количество альбуминов в сыворотке крови в среднем составляло 20,8±2,12 г/л (31,9 % от общего белка), что на 19,7 % меньше, чем у клинически здоровых животных.

Относительно глобулиновых фракций, то достоверной разницы в средних значениях α-, β- и γ-глобулинов нами не установлено. Однако, у 60% животных обнаружили увеличение γ-глобулинов, что свидетельствует о воспалительно-дистрофических процессах в паренхиме печени, подтверждением чего является высокое содержание в сыворотке крови γ-глобулинов (у 50 % животных). Их уровень был в пределах 13,1–27,2 г/л (27–43,2 % от общего белка, максимальная норма 25 %).

Содержимое иммуноглобулинов в сыворотке крови больных поросят в среднем составляло 9,3±1,13 г/л, что на 31,6 % меньше, по сравнению с клинически здоровыми.

У свиноматок второй группы установили снижение детоксикационной функции печени, показателем чего является низкий уровень мочевины в сыворотке крови (3,4±0,33 против 4,6±0,36 ммоль/л в первой).

Активность АсАТ в среднем по группе составила 600,0±30,6 нкат/л (2,16 ммоль/л), что в 1,8 раза выше, чем у клинически здоровых. Гиперферментемия АсАТ, вероятно всего, указывает на повреждение цитозольной и митохондриальной структур кардиомиоцитов. Активность аланиновой аминотрансферазы (АлАТ) у свиноматок обеих групп в среднем была одинаковой – 278,4±21,4 и 308,2±16,5 нкат/л. Не выходили за пределы нормы и показатели активности ГГТП (0,4±0,09 и 0,48±0,11 мкат/л; таблица 2).

Таблица 2 – Показатели активности ферментов у свиноматок

Группы животных	Биометрический показатель	АсАТ, нкат/л	АлАТ, нкат/л	ГГТП, мкат/л
Первая	Lim	281,7–413,3	217,4–353,9	0,28–0,57
	M±m	333,5±60,4	278,4±21,4	0,4±0,09
Вторая	Lim	525,0–731,3	210,7–391,2	0,33–0,71
	M±m	600,0±40,6	308,2±16,5	0,48±0,11
	p<	0,01	0,5	0,5

Поскольку беломышечная болезнь очень распространена в хозяйстве, то следующим этапом работы было апробирование лечебной схемы с применением препаратов фероселенит и Е-селен. Для этого отобрали две группы поросят трехдневного возраста (опытную, n = 10 и контрольную, n=10 гол.). Животным опытной группы на 3-й день жизни внутримышечно вводили фероселенит в дозе 5 мл на поросенка, а на 10-й – препарат Е-селен по 0,2 мл на поросенка. Животным контрольной группы на 3-й и 10-й дни жизни внутримышечно вводили препарат фероселенит в дозе 5 мл на поросенка.

Наблюдение за животными проводили в течение месяца. Кровь отбирали у поросят в 30-дневном возрасте. Поросята обеих групп в начале опыта были малоподвижные, кожа у них бледная, чаще всего животные лежали, почти не реагировали на внешние раздражители и прикосновения. Масса тела у поросят обеих групп колебалась от 780 до 950 г. Такое состояние у животных было в течение десяти дней наблюдений.

После второй инъекции селеновых препаратов были обнаружены следующие изменения клинического статуса. У животных, которым применяли фероселенит, общее состояние несколько улучшилось. Они стали более подвижными, среднесуточные привесы массы тела у них составляли 250 г и общая масса тела была

5,76±0,04 кг. У животных опытной группы общее состояние начало улучшаться буквально через сутки после введения препарата Е–селен. Поросята стали подвижными, у них полностью восстановился аппетит. С каждым днем они набирали массу тела, кожа их приобретала оттенок розового цвета. Дыхание составляло 25–30 дыхательных движений в минуту, животные активно реагировали на внешние раздражители. Масса тела в конце опыта составила в среднем 7,0±0,060 кг.

При исследовании крови у поросят опытной группы количество эритроцитов в крови составляло в среднем 6,8±0,19 Т/л, что достоверно больше, чем у контрольных животных. Следует отметить, что у всех животных количество эритроцитов было в норме. В 50 % поросят контрольной группы была обнаружена олигоцитемия (таблица 3).

Таблица 3 – Показатели эритроцитов, гемоглобина и гематокритной величины у свиней

Группы животных	Биометрический показатель	Эритроциты, Т/л	Гемоглобин, г/л	Гематокритная величина, %
Контрольная	Lim	5,4–7,0	81,0–108,0	31,0–36,0
	M±m	6,07±0,28	95,0±3,36	33,5±0,84
Опытная	Lim	6,2–7,4	98,0–121,0	33,0–37,0
	M±m	6,83±0,19	109,0±3,24	35,2±0,50
	p<	0,05	0,05	0,2

Выше, по сравнению с контрольными животными, в опытной группе был и уровень кровяного пигмента – гемоглобина. Содержимое его в крови животных в среднем 109,0±3,24 г/л, что на 12,8 % больше, чем у животных контрольной группы. Значения гематокритной величины у животных обеих групп практически не различались.

Выявили изменения и со стороны индексов "красной" крови. Если МСН у поросят обеих групп был на одном уровне, то средний объем эритроцитов (MCV) у опытных поросят был ниже, что, очевидно, свидетельствует об адекватной пролиферации "красных" клеток в костном мозге и преобладании процессов их созревания. Обеспечивает этот процесс микроэлемент Se и витамин E, которые являются сильными антиоксидантами и защищают цитоплазматические мембраны, не допуская их повреждения.

Комплекс витамин E–селен поддерживает иммунную систему, помогая ее клеткам в борьбе со свободными радикалами, и повышает неспецифическую резистентность организма. Интегральным показателем последнего является содержание общего белка в сыворотке крови. Уровень его у животных, которым применяли препарат E–селен, в среднем составлял 61,1±2,43 г/л, что на 21,5 % больше, чем у контрольных животных (таблица 4).

Выше у поросят опытной группы было и общее количество иммуноглобулинов. Их количество в сыворотке крови составило 16,3±0,6 г/л, (на 17,8 % больше, чем у животных контрольной) (таблица 4).

Применение фероселенита и E–селена положительно влияло на состояние гепатоцитов и кардиомиоцитов, о чем свидетельствуют показатели альбуминов, аспарагиновой и аланиновой аминотрансфераз (АсАТ и АлАТ) и гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП).

Количество альбуминов у опытных поросят после лечения в среднем по группе составляло 28,8±1,37 г/л (47,1 % от общего белка), что на 29,5 % больше, чем в контрольной группе. Активность АсАТ в опыте в среднем была 302,8±24,17 нкат/л (1,09±0,087 ммоль/л), что на 18,3 меньше, чем в контрольной группе. Активность АлАТ обеих групп была практически одинаковой 324,1±31,19 и 384,3±27,36 нкат/л. Показатели активности ГГТП у животных обеих групп в среднем составляли 0,37±0,086 и 0,52±0,034 мккат/л соответственно.

Таблица 4 – Показатели общего белка и γ-глобулинов у поросят (г/л)

Группы животных	Общий белок	Альбумины	γ-глобулины
Контрольная	38,2–58,4	15,6–25,6	10,0–15,5
	50,3±1,55	20,3±2,31	12,6±1,21
Опытная	53,3–70,8	24,1–32,4	14,8–18,4
	61,1±2,43	28,8±1,37	16,3±0,62
	p<	0,05	0,05

Положительный эффект от лечебной схемы, очевидно, связанный с влиянием селена, который входит в состав глутатионпероксидазы и предупреждает токсическое воздействие пероксидных радикалов и соединений, образующихся в результате ненасыщенных жирных кислот, а токоферол предотвращает разрушение ненасыщенных липидов мембран клеток свободными радикалами.

Заключение. Установлено, что наличие симметричных, безболезненных отеков в области корня хвоста у супоросных свиноматок указывает на нарушение минерально-витаминного обмена, которое приводит к рождению ослабленных поросят и возникновению у них беломышечной болезни. В крови свиноматок обнаружили олигоцитемию, олигохромемию (у 80 %), снижение гематокритной величины, макроцитоз, гипопротейнемию, гипоальбуминемию, гиперβ- и гаммаглобулинемию (у 60 %) и гиперферментемию АсАТ. Беломышечная болезнь у новорожденных поросят проявлялась гипорексией, анемичностью кожи и слизистых оболочек, атаксией, снижением тактильной и болевой чувствительности, у месячных – бронхопневмонией и гастроэнтеритом. У больных поросят установили олигоцитемию, олигохромемию, снижение гематокритной величины (в 100 %), гипохромиею, гипопротейнемию и гипергаммаглобулинемию (в 60 %). Применение препаратов фероселенита и E–селена поросятам положительно влияет на их общее состояние, рост и развитие, состояние эритроцитопоеза и повышает неспецифическую резистентность организма, на что указывают показатели крови.

Литература. 1. Справочник по болезням свиней / Под ред. А.И. Собко и И.Н. Гладенко. – К.: Урожай, 1981. – 232 с. 2. Александров С.Н. Промышленное содержание свиней / С.Н. Александров, Е.В. Прокопенко. – Москва: ООО «Издательство АСТ»; Донецк: Сталкер, 2004. – 188 с. 3. Біохімічні основи нормування мінерального живлення великої рогатої худоби. Мікроелементи / В.В. Влізло, Л.Г. Сологуб, В.Г. Янович [та ін.] // Біологія тварин. – 2006. – Т. 8, № 1–2. – С. 121–128. 4. The influence of different factors on selenium levels in dairy cow herds in the central region of Poland / A. Stec, J. Mochol, L. Kurek [et al.] // Pol. J. Vet. Sci. – 2005. – V. 8, № 3. – P. 225–229. 5. Красочко П.И. Болезни минеральной недостаточности / П.И. Красочко // Болезни крупного рогатого скота и свиней. – Минск: Технопринт, 2003. – С. 262–299. 6. Внутрішні хвороби тварин / [В.І. Левченко, І.П. Кондрахін, В.В. Влізло та ін.]; за ред. В.І. Левченка. – Біла Церква, 2001. – Ч.2. – 544 с. 7. Внутренние незаразные болезни животных: Учебник / [И.М. Карпуть, С.С. Абрамов, Г.Г. Щербакос и др.]; Под ред. проф. И.М. Карпутия. – Минск: Беларусь, 2006. – 679 с. 8. Kim Y.Y. Biological aspects of selenium in farm animals // Y.Y. Kim, D.C. Mahan / Asian-Aust. J. Anim. Sci. – 2003. – V. 16, № 3. – P. 435–444. 9. Зябаров А.Г. Клиническое проявление недостаточности селена и меры профилактики / А.Г. Зябаров, А.Д. Большаков // Ветеринария, 2002. – № 7. – С. 11–12. 10. Волошин Д.Б. Применение органического селена при гипотрофии поросят / Д.Б. Волошин, Л.Б. Заводник, Е.С. Печинская // Уч. записки Витебской ордена «Знак почета» гос. академии вет. медицины. – Витебск, 2008. – Т. 44, вып. 2. – Ч. 2. – С. 51–54. 11. Папазян Т. Влияние форм селена на воспроизводство и продуктивность свиней / Т. Папазян // Животноводство России. – 2003. – № 5. – С. 28–29. 12. Беляевский В.Н. Использование селенопирана при выращивании молодняка свиней, крупного рогатого скота в условиях повышенного содержания в среде радиоцезия / В.Н. Беляевский // Тр. Всерос. научно-исследов. ин-та физиологии, биохимии и питания с.-х. животных. – Боровск. – 2004. – Т. 43. – С. 243–256. 13. Остапчук Г.В. Влияние органической формы селена на уровень иммуноглобулинов в организме свиней / Г.В. Остапчук // Пробл. зооинженерії та вет. медицини: Зб. наук. праць ХДЗВА „Ветеринарні науки”. – Харків, 2008. – Вип. 16 (41), ч. 2. – Т. 2. – С. 99–103.

Статья передана в печать 24.03.2015 г.

УДК 637.54*652.05:636.087.7

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ И ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА ЖИРА-СЫРЦА ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ ОБОГАЩЕНИИ РАЦИОНА ПРОБИОТИЧЕСКОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКОЙ «ПРОБИКС»

Головко Н.П., Яценко И.В.

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина

В статье проанализирован жирнокислотный состав и показатели качества жира-сырца цыплят-бройлеров при обогащении рациона кормовой добавкой «Пробикс». Установлено, что при этом незначительно увеличивается содержание насыщенных жирных кислот, уменьшается содержание моновенасыщенных жирных кислот и их транс-изомеров, повышается содержание полиненасыщенных жирных кислот, уменьшается количество внутреннего жира, повышается его качество, а также наблюдается тенденция к уменьшению перекисного числа и увеличение йодного числа по сравнению с контролем.

The fatty acid composition and the indices of raw fat quality of broiler chickens when the ration was enriched by the feed additive "Probioks" have been analyzed in the article. It has been established that the content of unsaturated fatty acids increased insignificantly, the content of monosaturated fatty acids and their trans- isomers decreased, the content of polyunsaturated fatty acids increased, the amount of internal fat reduced but its quality increased and the tendency to higher number of peroxide and number of iodine as compared to the control was revealed.

Введение. В последнее время в птицеводстве все чаще применяют различные кормовые добавки, а именно смесь пробиотика и пребиотика для улучшения усвояемости корма, стабилизации микрофлоры кишечника соответственно и увеличения привесов живой массы птицы. Пробиотики - представляют собой живые микроорганизмы, которые положительно влияют на микрофлору желудочно-кишечного тракта и организм, в целом предохраняя его от ряда заболеваний.

Пребиотики - это компоненты корма, которые не перевариваются и не усваиваются в передних отделах желудочно-кишечного тракта, но ферментируются микрофлорой толстого отдела кишечника и стимулируют её рост и жизнедеятельность [10]. Наряду с этим не всегда проводятся исследования относительно показателей ветеринарно-санитарной экспертизы и пищевой ценности съедобных продуктов уоя птицы. Поскольку продукты уоя цыплят-бройлеров являются высоко биологическим и диетическим продуктом питания и по сравнению с другими видами мяса имеют меньшую стоимость, то исследования влияние различных видов кормовых добавок является актуальным вопросом.

Одним из продуктов уоя цыплят-бройлеров является жир. Важнейшей характеристикой жиров является прозрачность при температуре окружающей среды, при комнатной или при более низких температурах. Натуральные растительные жиры, которые остаются жидкими при комнатной температуре, содержат много ненасыщенных жирных кислот и характеризуются низкой температурой плавления. Жирные кислоты с 18 атомами углерода являются наиболее важными ненасыщенными жирными кислотами в жидких маслах.

Среди них - моновенасыщенная олеиновая кислота С18:1, наиболее устойчивая к окислению, линолевая С18:2 и линоленовая С18:3 кислоты относятся к полиненасыщенным жирным кислотам и рассматриваются как незаменимые (эссенциальные) жирные кислоты, поскольку не могут быть синтезированы в организме человека и должны поступать с пищей [11-13].

При одинаковом составе молекулы ненасыщенной жирной кислоты, атомы и группы при двойной связи могут быть расположены по одну сторону (цис-изомер) или по разным сторонам от нее (транс-изомер). Транс-изомеры могут образовываться естественным путем в результате жизнедеятельности бактерий кишечного тракта птицы под влиянием составляющих корма.

Потребление излишне большого количества транс-изомеров приводит к дисфункции организма на клеточном уровне. Прямых данных о токсичности транс-изомеров нет, но установлено, что транс-изомеры метаболизируются в организме значительно медленнее, чем природные транс-изомеры [7-6].

Целью работы было установить влияние кормовой добавки «Пробикс» на жирнокислотный состав и основные химические показатели жира-сырца цыплят-бройлеров.

Материал и методы исследования. Животные для исследования - цыплята-бройлеры голландского кросса «Росс 380» убойного возраста (42 суток). Кормили цыплят сухими полноценными комбикормами (основной рацион) в соответствии с нормами ВНИТИП. Для птицы с 1-х до 14-х суток использовали предстартовый, с 15-х до 35-х суток - стартовый и с 36-х до 40-х суток - финишный комбикорм.

Для исследований использовали комплексную зоотехническую кормовую добавку для животных - «Пробикс». Для этого сформировали одну опытную и одну контрольную группы по 5 голов цыплят в каждой группе. В опытной группе к основному рациону добавляли комплексную зоотехническую кормовую добавку для животных «Пробикс» - это смесь пробиотика и пребиотика. Пробиотическая составляющая премикса изготавливается с использованием специально подобранных оригинальных штаммов молочнокислых микроорганизмов *Lactobacillus acidophilus* (20 %), *Lactobacillus helveticus* (5 %), *Lactobacillus bulgaricus* (5 %), *Lactobacillus lactis* (5 %), *Streptococcus thermophilus* (5 %), *Enterococcus faecium* (20 %), выделенных из природных источников, молочных продуктов или селекционированных другими методами, без применения генных модификаций. Пребиотическая составляющая премикса изготавливается с использованием полидекстрозы (10 %) и инулина (20 %). В качестве стабилизатора используется карбонат кальция CaCO_3 (10 %) [1]. Добавку вносили в корм из расчета 600 г/т корма до 28-х суток и 300 г/т - до 42-х суток. Цыплята контрольной групп получали только основной рацион. Цыплята как контрольной, так и опытной групп имели свободный доступ к воде. В конце исследования проводили убой цыплят-бройлеров и отбирали внутренний жир для определения жирнокислотного состава. Отобранный жир взвешивали, измельчали и вытапливали в стеклянной посуде на водяной бане при температуре 85-90 °С. Проведение лабораторных исследований осуществляли согласно общепринятым правилам и методикам, согласно государственных стандартов Украины: жирнокислотный состав жира-сырца определяли на газовом хроматографе Shimadzu-14 В по ДСТУ ISO 5509-2001 «Жири та олм тваринж та рослинж. Приготування метилових ефіров жирних кислот» [2], ДСТУ ISO 5508 - 2001 «Жири та олм тваринж та рослинж. Аналіз методом газової хроматографії метилових ефіров жирних кислот» [6].

Показатели качества жира-сырца цыплят-бройлеров определяли по следующим ДСТУ: кислотное число - по ДСТУ 4350:2004. «Жири та олм тваринж і рослинж. Методи визначання кислотного числа» [3]; перекисное число - по ДСТУ ISO 3960-2001 «Жири та олм тваринж і рослинж. Визначання пероксидного числа» [4]; йодное число - по ДСТУ ISO 3961:2004 «Жири тваринж і рослинж та оли. Визначення йодного числа» [5].

Результаты исследования. К продуктам убоя цыплят-бройлеров относится много составляющих, в том числе и внутренний жир. Он имеет важное значение для установления пищевой ценности и безопасности тушки цыплят-бройлеров, поскольку жир может образовывать транс-изомеры, вредные для организма человека. Содержание жирных кислот в жире-сырце цыплят-бройлеров опытной и контрольной групп представлены в таблице 1.

В жире-сырце цыплят-бройлеров опытной и контрольной групп содержатся как насыщенные, так и ненасыщенные жирные кислоты. Так, среди насыщенных в жире цыплят-бройлеров контрольной группы обнаружено 6 жирных кислот: миристиновую (C14:0), пентодекановую (C15:0), пальмитиновую (C16:0), маргариновую (C17:0), стеариновую (C18:0), арахиновую (C20:0). В опытной группе определено всего 5 насыщенных жирных кислот миристиновую (C14:0), пальмитиновую (C16:0), маргариновую (C17:0), стеариновую (C18:0), арахиновую (C20:0).

Содержание в жире-сырце цыплят-бройлеров контрольной группы маргариновой кислоты достоверно больше опытной группы на 0,363 % ($p^0,001$). В то же время содержание арахидовой и стеариновой кислоты в контрольной группе достоверно ниже на 0,029 % ($p<0,05$), и 0,22 % ($p<0,01$) соответственно по сравнению с опытной группой (таблица 1).

Содержание пальмитиновой, миристиновой и пентодекановой жирных кислот опытной и контрольных групп отличаются не достоверно. Так, массовая доля пальмитиновой кислоты в опытной группе цыплят выше на 0,427 %, а миристиновой - ниже на 0,005 % по сравнению с контролем. Пентодекановая кислота определена только в контрольной группе в количестве 0,069 %. Вероятно, в опытной группе ее количество было слишком маленькое для определения аппаратурно.

Общее количество насыщенных жирных кислот контрольной группы составило 28,739 %, опытной - 28,916 %. Таким образом, регистрируется тенденция к увеличению насыщенных жирных кислот в жире-сырце цыплят-бройлеров опытной группы за счет таких кислот как пальмитиновая и стеариновая (таблица 1).

В составе мононенасыщенных жирных кислот во внутреннем жире-сырце цыплят-бройлеров контрольной группы определено 7 жирных кислот: миристолеиновую (C14:1), пальмитолеиновую (trans) (C16:1 t), пальмитолеиновую (cis) (C16:1 c), маргаролеиновую (C17:1), олеиновую (trans) (C18:1 t), олеиновую (cis) (C18:1 c), гадолеиновую (C20:1). В опытной группе содержание мононенасыщенных жирных кислот было тем же за исключением олеиновой (trans) кислоты, вероятно количество которой было слишком мало для определения аппаратурно.

Содержание в жире-сырце цыплят-бройлеров контрольной группы пальмитолеиновой (trans) и маргаролеиновой жирных кислот достоверно больше опытной группы на 0,027 % ($p<0,05$), и 0,055 % ($p^0,001$) соответственно.

Количество миристолеиновой, пальмитолеиновой (cis), олеиновой (cis) и гадолеиновой жирных кислот опытной и контрольных групп отличаются не достоверно и имеют тенденцию к уменьшению в опытной группе по сравнению с контролем. Содержание миристолеиновой кислоты в опытной группе цыплят меньше на 0,011 %, пальмитолеиновой (cis) - ниже на 0,074 %, олеиновой (cis) - 0,873 %, а гадолеиновой - незначительно снижается на 0,002 % по сравнению с контролем. Олеиновая (trans) кислота определена только в контрольной

группе в количестве - 0,085 %. Вероятно, в опытной группе ее количество было слишком маленькое для определения аппаратурно (таблица 1).

Общее количество мононенасыщенных жирных кислот контрольной группы составило 48,086 %, опытной - 46,468 % (таблица 1). Таким образом, в опытной группе наблюдается тенденция к уменьшению количества мононенасыщенных жирных кислот в жире-сырце цыплят-бройлеров, в основном за счет снижения цис-изомеров и транс-изомеров жирных кислот, тем самым улучшается качество, показатели безопасности жира-сырца.

Таблица 1 - Содержание жирных кислот в жире-сырце цыплят-бройлеров (М±т, n=5)

№ п/п	Название жирных кислот	Контрольная группа	Опытная группа
Насыщенные жирные кислоты			
1	Миристиновая С14:0	0,473±0,005	0,468±0,007
	Разница от контроля		0,005
2	Пентодекановая С15:0	0,069±0,003	-
	Разница от контроля		-
3	Пальмитиновая С16:0	23,687±0,190	24,114±0,187
	Разница от контроля		-0,427
4	Мargarиновая С17:0	0,431 ±0,006	0,068±0,002 **
	Разница от контроля		0,363
5	Стеариновая С18:0	3,956±0,048	4,172±0,026 "
	Разница от контроля		-0,216
6	Арахиновая С20:0	0,123±0,009	0,094±0,004 *
	Разница от контроля		0,029
Мононенасыщенные жирные кислоты (МНЖК)			
7	Миристоолеиновая С14:1 ш-5	0,190±0,004	0,179±0,006
	Разница от контроля		0,011
8	Пальмитоолеиновая (trans) С16:1 tw-7	0,447±0,004	0,420±0,008 *
	Разница от контроля		0,027
9	Пальмитоолеиновая (cis) С16:1 сш-7	6,690±0,060	6,616±0,061
	Разница от контроля		0,074
10	Маргароолеиновая С17:1	0,614±0,003	0,068±0,002
	Разница от контроля		0,055
11	Олеиновая (trans) С18:1 t (Вакценовая) ш-9	0,085±0,003	-
	Разница от контроля		-
12	Олеиновая (cis) С18:1 сш-9	39,715±0,348	38,842±0,481
	Разница от контроля		0,873
13	Гадолеиновая С20:1 ш-11	0,345±0,006	0,343±0,007
	Разница от контроля		0,002
Полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК)			
14	Линолевая С18:2 ы-6	21,375±0,143	22,506±0,129
	Разница от контроля		-1,131
15	а-Линоленовая С18:3а со-6	0,141 ±0,005	0,139±0,002
	Разница от контроля		0,002
16	у - Линоленовая С18:3у ш-3	1,017±0,011	1,009±0,015
	Разница от контроля		0,008
17	Гексодекадиеновая С16:2	0,176±0,006	0,184±0,006
	Разница от контроля		-0,008
18	Эйкозадиеновая С20:2 ш-6	0,152±0,005	0,115±0,007 "
	Разница от контроля		0,037
19	Дигомо-у-линоленовая С20:3 и>-6	0,089±0,005	-
	Разница от контроля		-
20	Арахидоновая С20:4 ш-6	0,222±0,006	0,207±0,009
	Разница от контроля		0,015
Содержание насыщенных ЖК, %		28,739	28,916
Содержание ненасыщенных ЖК, %		71,258	70,628
Содержание МНЖК %		48,086	46,468
Содержание ПНЖК %		23,172	24,16
Соотношение насыщенных к ненасыщенным ЖК		1:2,479	1:2,442
1ш-6 %		21,979	22,967
Xw-3 %		1,017	1,009
lu)-6/lw-3		21,612	22,762

Примечание: * P<0,05; ** P <0,01; *** P<0,001 - относительно контроля

Особое значение в питании человека имеют полиненасыщенные жирные кислоты, а именно линолевая (С18:2), линоленовая (С18:3), арахидоновая (С20:4) кислоты и их производные. Они относятся к незаменимым (эссенциальным), поскольку не синтезируются в организме человека и должны поступать в организм человека с пищей [7-9].

Среди полиненасыщенных жирных кислот контрольной группы было обнаружено 7 кислот, в частности линолевая, альфа-линоленовая, гамма-линоленовая, гексодекадиеновая, эйкозадиеновая, дигомогамма-линоленовая, арахидоновая. В опытной группе содержание жирных кислот было таким же за исключением

дигомогамма-линоленовой кислоты, количество которой, вероятно, было очень мало для определения аппаратурно.

Содержание в жире-сырце цыплят-бройлеров опытной группы линоленовой кислоты достоверно больше контрольной группы на 1,131 % ($p \leq 0,001$). В то же время количество эйкозодиеновой кислоты в контрольной группе достоверно больше на 0,037 % ($p < 0,01$) соответственно, по сравнению с опытной группой (таблица 1).

Количество альфа-линоленовой, гамма-линоленовой и арахидоновой полиненасыщенных жирных кислот имели тенденцию к увеличению в контрольной группе относительно опытной группы. Массовая доля альфа-линоленовой кислоты в опытной группе незначительно ниже контрольной на 0,002 %, гамма-линоленовой - меньше на 0,008 %, а арахидоновой - уменьшается на 0,207 %. В то же время содержание гексодекадиеновой кислоты имеет тенденцию к увеличению в опытной группе относительно контрольной, ее количество превышает контрольную группу на 0,008 %. Дигомогамма-линоленовая кислота была определена только в контрольной группе в количестве 0,089 %, её содержание в опытной группе кислоты было незначительным (таблица 1).

Общее количество полиненасыщенных жирных кислот контрольной группы составило 23,172 %, опытной - 24,160 %. Таким образом, в опытной группе наблюдается тенденция к увеличению количества полиненасыщенных жирных кислот в жире-сырце цыплят-бройлеров, в основном за счет линолевой и гексодекадиеновой кислот. Тем самым улучшает качество жира-сырца. Содержание омега-6 в опытной группе увеличивается на 0,988 % по сравнению с контролем, а количество омега-3 незначительно увеличивается в контрольной группе на 0,008 % по сравнению с опытной. Соотношение 1ш-6/1ш-3 в контрольной группе составляет 21,612:1, в опытной - 22,762:1. Таким образом, кормовая добавка «Пробикс» незначительно влияет на соотношения омега-6 к омега-3 в жире-сырце цыплят-бройлеров.

Общее содержание ненасыщенных жирных кислот в контрольной группе составило 71,258 %, в опытной группе несколько снижается и составляет 70,628 %. Соотношение содержания насыщенных к ненасыщенным жирным кислотам в контрольной группе составило 1:2,479, а в опытной - 1:2,442 (таблица 1). Таким образом, в курином жире как контрольной, так и опытной групп содержание твердых насыщенных жирных кислот и жидких ненасыщенных жирных кислот составляет приблизительно 1:3, что является оптимальным для питания человека и получения мягких жировых смесей, например, спредов. К показателям качества жира-сырца относятся такие показатели, как кислотное, перекисное и йодное числа (таблица 2).

Таблица 2 - Показатели качества жира цыплят-бройлеров (M±t, n=5)

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа
		«Пробикс»
1. Кислотное число мг КОН/г	0,290±0,013	0,338±0,014 *
% к контролю	100	+16,55
2. Перекисное число моль/кг	1,172±0,060	1,078±0,049
% к контролю	100	-8,02
3. Йодное число, % J2	82,500±0,507	89,208±0,616 ***
% к контролю	100	+8,13

Примечание: * $P < 0,05$; *** $P \leq 0,001$ относительно контроля

Установлено, что кислотное число в контрольной группе достоверно ниже опытной на 16,55 % ($p < 0,05$). Кислотное число жира-сырца цыплят-бройлеров как опытной, так и контрольной групп низкое (допускается до 1,5). Из этого можно сделать вывод, что кормовая добавка «Пробикс» не оказывает значительного влияния на кислотное число, хотя есть тенденция к его увеличению в опытной группе по сравнению с контрольной (таблица 2).

Перекисное число жира-сырца цыплят-бройлеров опытной и контрольной групп отличается не достоверно. Так, в опытной группе перекисное число ниже на 8,02 % по сравнению с контролем. Снижение перекисного числа в опытной группе очевидно связано с антиоксидантной способностью кормовой добавки «Пробикс».

Йодное число жира-сырца цыплят-бройлеров опытной группы достоверно выше контрольной на 8,13 % ($p \leq 0,001$). Таким образом, повышение йодного числа в опытной группе свидетельствует об увеличении степени ненасыщенности жирных кислот.

Заключение. Установлено, что в жире-сырце цыплят-бройлеров содержание твердых насыщенных жирных кислот и жидких ненасыщенных жирных кислот составляет приблизительно 1:3, что является оптимальным для питания человека.

При обогащении рациона цыплят-бройлеров кормовой добавкой «Пробикс», уменьшается количество внутреннего жира в тушках, содержание насыщенных жирных кислот имеет тенденцию к увеличению в опытной группе по сравнению с контролем, а содержание ненасыщенных жирных кислот имеет тенденцию к уменьшению. Содержание мононенасыщенных жирных кислот в опытной группе уменьшается в основном за счет транс-изомеров, а полиненасыщенных имеет тенденцию к увеличению преимущественно за счет незаменимых жирных кислот. Таким образом, они улучшают качество жира-сырца.

Под влиянием кормовой добавки «Пробикс» увеличивается кислотное число по сравнению с контролем, но оно все равно остается в пределах нормы. Имеет тенденцию к снижению перекисное число, что, очевидно, связано с антиоксидантной способностью кормовой добавки «Пробикс». Увеличение йодного числа в опытной группе свидетельствует об увеличении степени ненасыщенности жирных кислот, что, вероятно, происходит за счет увеличения количества полиненасыщенных жирных кислот по сравнению с контрольной.

Литература. 1. <http://www.ekokom-bio.com/probiotiki-ilia-siel-s-kokhoziaistviennykh-zhivotnykh> 2. ДСТУ ISO 5509 - 2001 Жири та ол/Т тварини та рослинт. Приготування метилових ефирів жирних кислот. 3. ДСТУ 4350:2004 Оли. Методи визначання кислотного числа. 4. ДСТУ ISO 3960 - 2001 Жири та олп тварини і рослинт. Визначання пероксидного числа. 5. ДСТУ ISO 3961:2004 Жири тварини і рослинт та оли. Визначення йодного числа. 6. ДСТУ ISO 5508 - 2001 Жири та оли тварини та рослинт. Аналіз методом газовоУ хроматограф/Т метилових еф/ріє жирних кислот. 7. Юрьева М. С. Структурированные липиды в современном питании / М. С. Юрьева // ВіСНУК НТУ «ХП1». - 2013. - № 64. - С 175-181. 8. Структура та значення полі ненасичених жирних кислот в обмі речовин людини і тварин / В. В. Цюпко // біологія та валеологія: збірник наукових праць. - Харків, 2008. - Випуск 10. - С. 120-125. 9. Берегов Т.Т. Регуляція ліпидного обміла / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин // Біологіческая химия. - М., 2005.-234 с. 10. <http://ru.wikipedia.org/wiki/11>. Morhauer H., Holman R. T. The effect of dose level of essential fatty acids upon fatty composition of the rat liver/H. Morhauer, R.T. Holman//j.Lipid Res. - 1963. - Vol. 4. - P. 151-159. 12. Hansen A. Lipid in modern nutrition / A. Hansen. - N.-Y.; Raven Press, 1987. - 248 p. 13. Paulsrud J.R. Essential fatty acid deficiency in infants induced by fat-free intravenous feeding/ J.R. Paulsrud, L. Pensler, C.F. mitten, S. Stewart, R.T. Halman//Am. J. Clin. Nutr. - 1972. - Vol. 25. - P. 897- 904.

Статья передана в печать 14.04.2015 г.

УДК 619:616.8:636.7

МАКРО- И МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ МОЗЖЕЧКА ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

Горальский Л.П., Солимчук В.М.

Житомирский национальный агроэкологический университет, г. Житомир, Украина

Представлены результаты макро- и микроскопического строения, морфометрические показатели мозжечка половозрелых домашних животных. По данным исследований органометрии абсолютная масса мозжечка кроликов составляет $1,54 \pm 0,07$ г, собак $8,38 \pm 0,22$, свиней $13,45 \pm 0,41$ г. относительная масса Р $0,02 \pm 0,001$ %; $0,03 \pm 0,005$, $0,01 \pm 0,003$ % соответственно. Особенности микроскопического строения мозжечка у домашних животных характеризуются тремя слоями его коры: молекулярным, ганглионарным и зернистым. Молекулярный слой мозжечка у кроликов составляет $359,8 \pm 29,8$ мкм, ганглионарный Р $57,4 \pm 3,87$, зернистый Р $287,5 \pm 5,99$ мкм, у собак – $257,25 \pm 7,47$ мкм, $51,3 \pm 2,07$, $262,1 \pm 12,48$ мкм и у свиней – $250,6 \pm 14,52$ мкм, $63,2 \pm 6,34$, $373,8 \pm 15,76$ мкм соответственно.

Presentation of the results of macro- and microscopic structure, morphometric parameters of the cerebellum of adult animals. According to studies organometrii absolute mass of the cerebellum rabbits is $1,54 \pm 0,07$ g, dogs $8,38 \pm 0,22$ g, pigs $13,45 \pm 0,41$ g, relative weight - $0,02 \pm 0,001$ %; $0,03 \pm 0,005$, $0,01 \pm 0,003$ %, respectively. Features of the microscopic structure of the cerebellum in domestic animals characterized by its three layers of the cortex: molecular, ganglion and grainy. Molecular layer of the cerebellum in rabbits is $359,8 \pm 29,8$ μ m, ganglion - $57,4 \pm 3,87$, grainy - $287,5 \pm 5,99$ μ m, the dogs - $257,25 \pm 7,47$ μ m, $51,3 \pm 2,07$, $262,1 \pm 12,48$ μ m and pigs - $250,6 \pm 14,52$ μ m, $63,2 \pm 6,34$, $373,8 \pm 15,76$ μ m, respectively.

Ключевые слова: мозжечок, нейрон, аксон, дендрит, перикарион.

Keywords: cerebellum, neuron, axon, dendrite, perikaryon.

Введение. Нервная система является одной из ведущих интегрирующих систем организма. Она, вместе с эндокринной и сердечно-сосудистой системами объединяет его в единое целое. Организм в процессе жизнедеятельности адаптируется к условиям окружающей среды. Уровень приспособления к внешней среде контролируется нервной системой. Таким образом, нервная система обеспечивает связь организма с внешней средой, координирует и регулирует кровообращение, лимфоток, метаболические процессы, которые, в свою очередь, влияют на состояние и деятельность нервной системы. Последняя, в свою очередь, воспринимает различную информацию, которая поступает из окружающей среды и внутренних органов, анализирует ее и генерирует сигналы, которые обеспечивают соответствующие реакции, адекватные действующим раздражителям [8, 6].

Нервную систему у высокоорганизованных животных и человека по морфологическим признакам разделяют на центральную и периферическую. К первой относят головной и спинной мозг. Вторая объединяет периферические нервные узлы, стволы и окончания [7].

В зависимости от характера иннервации органов и тканей, нервную систему условно разделяют на соматический и автономный отделы. Соматическая нервная система иннервирует мышцы тела, обеспечивает сенсорные и моторные функции организма [8].

Автономная нервная система регулирует деятельность всех внутренних органов, сосудов и желез, а также осуществляет трофическую иннервацию, которая зависит от состояния нервной системы. Она усиливает или ослабляет функцию органов и систем, регулируя их тонус. Ее разделяют на симпатическую (иннервирует сосуды) и парасимпатическую (иннервирует стенки внутренностей и железы) [5].

Одним из актуальных вопросов является изучение состава и структурно-функциональных особенностей нервной системы позвоночных животных и человека. Особенно это касается глубокого и всестороннего изучения органов центральной нервной системы, в состав которых входит мозжечок, отвечающий за координацию движений, регуляцию равновесия и мышечного тонуса. Взаимодействие мозжечка с другими отделами центральной нервной системы позволяет данному участку головного мозга обеспечить точные и координированные движения тела в различных внешних условиях [2, 4]. Вместе с тем, он имеет большое значение для понимания морфофункциональных взаимоотношений с различными органами и

системами, средой обитания и адаптацией его структур, в зависимости от особенностей функционирования организма [6].

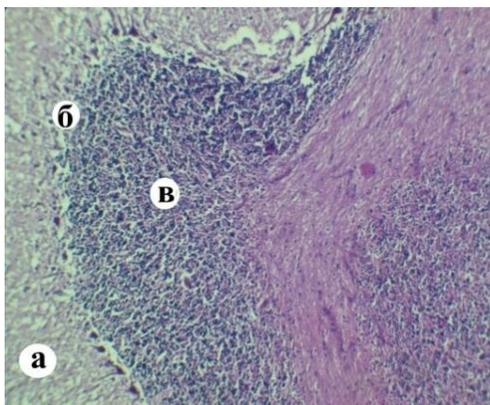
Несмотря на значительные успехи и достижения отечественной и зарубежной морфологии в изучении органов нервной системы, в частности мозжечка домашних животных, много вопросов в настоящее время остаются нерешенными. Это обязывает исследователей осуществлять разностороннее изучение нервной системы, как одной из важнейших интегрированных систем организма.

Материал и методы исследований. Работа проводилась на кафедре анатомии и гистологии Житомирского национального агроэкологического университета факультета ветеринарной медицины. Объектом для исследований был мозжечок половозрелых домашних животных: свиней (n=6), собак (n=6), кроликов (n=6). В работе использовались анатомические, гистологические, нейрогистологические и морфометрические методы исследований [1, 3]. Для гистологического и нейрогистологического исследований кусочки материала фиксировали в 12%-ном водном растворе нейтрального формалина с последующей заливкой в парафин, после чего изготавливали серийные срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Также проводили импрегнацию азотнокислым серебром по методу Большовского-Гросс. Морфометрические исследования гистологических препаратов осуществляли с помощью микроскопа «Биолам-Ломо», используя окуляр-микрометр [1].

Результаты исследований. Мозжечок свиней, собак и кроликов как и других млекопитающих, размещается под затылочной частью полушарий головного мозга, дорсально от варолиевого моста и продолговатого мозга. Лежит он в задней черепной ямке. В нем различают объёмные боковые части, или полушария, и расположенную между ними среднюю узкую часть – червячок. На переднем крае мозжечка находится передняя часть, которая охватывает прилегающую часть ствола мозга. На заднем краю более узкая задняя часть, которая отделяет полушария друг от друга.

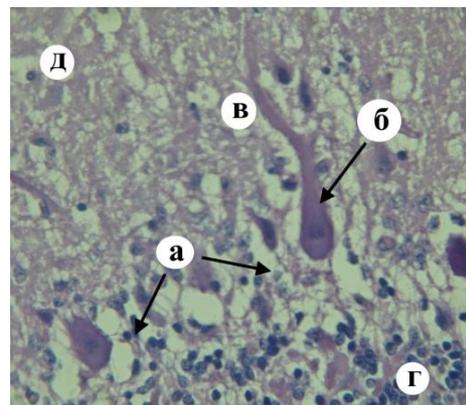
У разных видов животных макроскопическое строение мозжечка зависит от вида, возраста, пола, степени сложности движений тела животных и тому далее. По результатам наших исследований, абсолютная масса мозжечка кроликов составляет $1,54 \pm 0,07$ г, собак – $8,38 \pm 0,22$ г, свиней – $13,45 \pm 0,41$ г. При этом, относительная масса мозжечка в данных животных коррелирует с абсолютной массой тела, и соответственно равна у кроликов – $0,02 \pm 0,001$ %; у собак – $0,03 \pm 0,005$ %; у свиней – $0,01 \pm 0,003$ %;

Микроскопически мозжечок состоит из серого и белого веществ. Поверхность мозжечка покрыта слоем серого вещества, которое составляет кору мозжечка и образует узкие извилины – листья мозжечка. Листья отделены друг от друга бороздами. Каждый лист (извилины) мозжечка представляет собой тонкий слой белого вещества, покрытого корой (серым веществом). В коре выделяется три слоя: наружный – молекулярный, средний – слой грушевидных нейронов (ганглионарный) и внутренний – зернистый (рис. 1).



а – молекулярный слой; б – ганглионарный слой; в – зернистый слой. Гематоксилин-эозин х 56.

Рис. 1. Фрагмент микроскопического строения мозжечка свиньи



а – ганглионарный слой; б – тело грушевидных нейронов (клетки Пуркинью); в – дендриты клеток Пуркинью; г – зернистый слой; д – молекулярный слой. Гематоксилин-эозин х 280.

Рис. 2. Фрагмент микроскопического строения мозжечка свиньи

Молекулярный слой содержит два основных вида нейронов: корзинообразные – аксоны которых охватывают тела клеток Пуркинью, и звездчатые – аксоны которых образуют синапсы с дендритами клеток Пуркинью.

Корзинообразные нейроны находятся в верхней трети молекулярного слоя. Это мелкие, неправильной формы клетки. Их тонкие, длинные дендриты ветвятся преимущественно в плоскости, расположенной перпендикулярно к извилине. Длинные аксоны клеток всегда идут поперек извилины и параллельно поверхности над грушевидными нейронами. Они отдают коллатерали, направляющиеся в перикарион грушевидных нейронов и формируют вокруг их сплетения, которые напоминают корзины.

Звездчатые нейроны лежат выше корзинообразных, среди них мы выделили два типа: большие и малые нейроны. Последние – мелкие звездчатые нейроны, обеспечены тонкими короткими дендритами и слаборазветвленными аксонами, образующие синапсы на дендритах грушевидных клеток. Большие звездчатые нейроны в отличие от мелких имеют длинные и сильно разветвленные дендриты и аксоны. Ветви из аксонов соединяются с дендритами грушевидных клеток Пуркинью и входят в состав так называемых „корзин“.

Корзинообразные и звездчатые нейроны молекулярного слоя представляют собой единую систему вставных нейронов, они передают тормозные нервные импульсы на дендриты и тела грушевидных клеток Пуркинье.

Ганглионарный слой формируют большие грушевидные нейроны (клетки Пуркинье), расположенные в среднем слое в один ряд. Они характеризуются развитым деревом дендритов, которые отходят от суженных верхушек грушевидных нейронов и направляются в молекулярный слой, где ветвятся кустообразно. Располагаются клетки строго перпендикулярно завитков мозжечка. Поэтому их форма в плоскости, через которую проходят дендриты, – грушевидная, а в перпендикулярной плоскости – веретенообразная (рисунок 2).

Зернистый слой, образованный нейронами-зёрнами и звездчатыми нейронами (клетки Гольджи). В отличие от клеток Пуркинье, клетки-зёрна являются одними из самых маленьких и в то же время наиболее многочисленных нейронов мозга. Аксоны клеток-зёрен поднимаются в верхний молекулярный слой коры мозжечка и в нем Т-образно делятся на 2 ветви, ориентированные параллельно поверхности коры вдоль извилин мозжечка. Эти параллельные волокна пересекают ветвления дендритов многих клеток Пуркинье и образуют с ними и дендритами корзинообразные звездчатые синапсы нейронов.

Вторым типом клеток зернистого слоя мозжечка являются тормозные большие звездчатые нейроны. Различают два вида таких клеток: с короткими и длинными аксонами. Нейроны с короткими аксонами (клетки Гольджи) лежат вблизи ганглионарного слоя. Их разветвленные дендриты распространяются в молекулярном слое и образуют синапсы с параллельными волокнами – аксонами клеток-зёрен. Аксоны направляются в зернистый слой к клубочкам мозжечка и заканчиваются синапсами на конечных разветвлениях дендритов клеток-зёрен проксимальнее синапсов моховидных волокон.

Морфометрическими исследованиями установлена разная толщина слоёв коры мозжечка домашних животных. Молекулярный слой мозжечка у кроликов $359,8 \pm 29,8$ мкм, ганглионарный слой – $57,4 \pm 3,87$, зернистый слой – $287,5 \pm 5,99$ мкм, у собак – $257,25 \pm 7,47$ мкм, $51,3 \pm 2,07$, $262,1 \pm 12,48$ мкм и у свиней – $250,6 \pm 14,52$ мкм; $63,2 \pm 6,34$; $373,8 \pm 15,76$ мкм соответственно.

Белое вещество состоит из аксонов нервных клеток, поступающих в мозжечок и аксонов клеток Пуркинье, идущих к глубоким ядрам мозжечка. Аfferентные волокна, поступающие в кору мозжечка, представлены двумя видами – моховидными и так называемыми лианоподобными волокнами.

Моховидные волокна направляются от ядер варолиевого моста, спинного мозга, вестибулярных ядер и непосредственно через клетки-зёрна передают возбуждения на грушевидные клетки Пуркинье. Они заканчиваются в клубочках зернистого слоя мозжечка, где вступают в контакт с дендритами клеток-зёрен. Каждое волокно дает ветви ко многим клубочкам мозжечка. Аксоны клеток-зёрен по параллельным волокнам молекулярного слоя передают импульсы дендритам грушевидных, корзинообразных, звездчатых нейронов зернистого слоя. Кроме мохообразных волокон, в кору мозжечка нервные импульсы поступают лианоподобными волокнами, которые заканчиваются на грушевидных клетках.

Заключение. 1. По результатам макроскопических исследований абсолютная масса мозжечка кроликов составляет $1,54 \pm 0,07$ г, собак – $8,38 \pm 0,22$, свиней – $13,45 \pm 0,41$ г. При этом, относительная масса мозжечка у данных животных коррелирует с абсолютной массой тела, и соответственно равна у кроликов – $0,02 \pm 0,001$, у собак – $0,03 \pm 0,005$, у свиней – $0,01 \pm 0,003$ %.

2. Мозжечок домашних животных образован из трёх слоёв: молекулярного, ганглионарного и зернистого и характеризуется разной популяцией нейронов, которые имеют обусловленную связь между уровнем морфофункционального состояния нервных структур.

3. Морфометрическими исследованиями установлена толщина слоёв коры мозжечка. Молекулярный слой мозжечка у кроликов составляет $359,8 \pm 29,8$ мкм, ганглионарный слой – $57,4 \pm 3,87$, зернистый слой – $287,5 \pm 5,99$ мкм, у собак – $257,25 \pm 7,47$ мкм, $51,3 \pm 2,07$, $262,1 \pm 12,48$ мкм и у свиней $250,6 \pm 14,52$ мкм, $63,2 \pm 6,34$ и $373,8 \pm 15,76$ мкм соответственно.

Дальнейшее направление исследований направлено на проведение исследований макро - и микроскопического строения мозжечка домашних животных в видовом сравнительном аспекте.

Литература. 1. Горальский Л. П. Основы гистологической техники и морфофункциональные методы исследований в норме и при патологии / В. Т. Хомич, А. И. Кононский. - Учебное пособие - Житомир: «Полесье», 2005. - 288 с. 2. Карамян А. И. Эволюция конечного мозга позвоночных / А. И. Карамян. - М.: Наука, 1976. 218 с. 3. Меркулов Г.А. Курс патологической техники / Г. А Меркулов - Л.: Медицина, 1969. - 423 с. 4. Скворцова Т. А. Особенности величины и строения мозга птиц в связи с образом жизни / Т. А. Скворцова // Тез. докл. VI Всесоюз. съезда анатомов, гистологов и эмбриологов. - Харьков, 1958. - С. 235-236 5. Смолянинов В. В. О некоторых особенностях организации коры мозжечка / В. В. Смолянинов // Модели структурно -функциональной организации некоторых биологических систем. - М. 1966. 68 с. 6. Волохов А. А. Закономерности онтогенеза нервной деятельности / А.А. Волохов. – М.: Изд-во АН СССР, 1971. – 312 с. 7. Оленев С. Н. Конституция мозга / С. Н. Оленев. – Л.: Медицина, 1987. – 207 с. 8. Михайлов Н. В. Нервная система / Н. В. Михайлов / Анатомия домашних животных / [И. В. Хрусталева, Н. В. Михайлов, Я. И. Шнейберг и др.] : под ред И. В. Хрусталевой. – М.: Колос, 1994. – 378 с.

Статья передана в печать 20.04.2015 г.

УДК 636.2:691.112 (272.485)

ПОКАЗАТЕЛИ СОСТАВА КРОВИ КОРОВ В ПЕРИОД СУХОСТОЯ И ПОСЛЕ ОТЕЛА**Грищук Г.П.**

Житомирский национальный агроэкологический университет, г. Житомир, Украина

Установлено, что у коров с физиологическим течением отёла, сравнительно с коровами до отёла, выражена тенденция к возрастанию в крови количества эритроцитов, содержания глюкозы, неорганического фосфора, общего кальция, альбуминов, АЛТ, ЛДГ. При задержании последа в крови коров возрастает активность лужной фосфатазы, содержание креатинина, холестерина, глюкозы, общего белка и альбуминов, в сравнении с коровами до и после отёла.

Is established that at the cows with physiological course of delivery compared with the cows up to delivery the tendency to increase in blood of quantity of erythrocytes, contents of glucose, inorganic phosphorus, general calcium, albumins, ALT, LDG is expressed. At a delay of placenta in blood of the cows the activity of alkaline phosphatasa, contents of creatininum, cholesterinum, glucose, general proteins and albumin in comparison with the cows before and after delivery grows.

Ключевые слова: коровы, отёл, задержание последа, цитологические и биохимические показатели крови.

Keywords: cows, delivery, a delay of placenta, cytological and biochemical indexes of blood.

Введение. Кровь в организме животных выполняет ряд важных функций. Изменения в организме, как физиологического состояния, так и при заболеваниях находят свое отображение, в первую очередь, в показателях крови. Поэтому, анализ результатов лабораторного исследования крови является одним из основных условий разработки лечебно-профилактических мероприятий [1, 3, 7].

Ранняя акушерская диспансеризация как основа профилактики заболеваний включает проведение цитологического и биохимического исследования крови не менее чем от 10% коров. Полученные результаты являются основанием для внесения изменений либо коррекции рационов, а также условий содержания животных [6, 8], что в свою очередь позволит снизить количество животных с патологией родов и послеродового периода [2].

Среди многих биологических факторов, которые вызывают бесплодие у самок, значительное место занимают родовые и послеродовые осложнения. Наиболее широко распространено задержание последа, которое регистрируется в среднем у 25-40% коров [2, 6].

Известно, что акушерско-гинекологическая патология непосредственно связана с нарушением обменных процессов, которые проявляются на ранних стадиях при определении биохимического статуса организма, то есть при проведении исследования крови животных [3, 5, 9]. Выявление и анализ изменений этих показателей у сухостойных коров дает возможность использовать мероприятия, направленные на нормализацию либо улучшение состояния организма самки, то есть само течение родов, послеродового периода и получения приплода с лучшими показателями жизнедеятельности [6, 8].

Целью нашей работы было исследование цитологического и биохимического состава крови коров в сухостойный период, после отела и при задержании последа.

Материал и методы исследований. Исследования проведены на 30 коровах украинской черно-пестрой породы, средней упитанности, живой массой 500-550 кг, с годовым надоем 5000 кг молока. Было сформировано три опытные группы коров: первая – за 5-7 суток до отела, вторая – на 1-3 сутки после отела, а третья – с задержанием последа. Кровь для исследований отбирали из яремной вены утром до кормления.

Результаты исследований. Нами установлено (таблица 1), что у животных всех групп исследованные показатели крови, кроме концентрации глобулинов, содержания общего билирубина и активности АЛТ, АСТ, а также ЛФ, изменялись в физиологических пределах, но в разные периоды были неодинаковыми. Так количество эритроцитов в крови коров первой опытной группы за 5-7 суток до отела составляло $5,8 \pm 0,4$ Т/л, что ниже на 5,0%, чем у коров на 3 день после отела ($6,1 \pm 0,3$ Т/л) и при задержании последа ($6,2 \pm 0,4$ Т/л).

Концентрация гемоглобина перед отелом также была меньше на 1% ($P > 0,5$), чем у коров после отела. Такое изменение содержания в крови количества эритроцитов и концентрации гемоглобина, то есть их одновременное увеличение, хотя и не достоверное, но закономерное считается физиологическим [1, 3, 7].

Достоверное увеличение количества гемоглобина у коров при задержании последа имеет определенное обоснование. Оно обусловлено тем, что связь между фетальной и материнской частями плаценты и процессами, которые в них происходят, не прекращались и требовали повышенного поступления гемоглобина [4].

По количеству в крови лейкоцитов достоверной разницы не установлено, но у коров после отела их было меньше на 6,7% ($6,0 \pm 0,5$ до $5,6 \pm 0,4$ Г/л), чем у коров до отела и при задержании последа. Установленное в крови количество лейкоцитов у коров при задержании последа ($6,0 \pm 0,4$ Г/л) указывает на то, что воспалительный процесс в матке отсутствует из-за высокого содержания в ней муцинов [2, 7].

Нами не установлено достоверной разницы по содержанию в крови коров глюкозы, но ее концентрация у коров после отела была наименьшей ($2,84 \pm 0,08$ ммоль/л), а при задержании последа – наибольшей ($3,03 \pm 0,08$ ммоль/л). Аналогичная динамика наблюдалась и при содержании в крови Са и Р, но их соотношение было почти одинаковым и составляло 1 : 1,9 до и после отела и 1 : 1,8 – при задержании последа.

Таблица 1 - Цитологический и биохимический состав венозной крови коров, $M \pm m$; $n=10$

Показатели	Перед отелом (5-7 суток)	После отела (1-3 сутки)	Задержание последа (1-3 сутки)
Эритроциты, Т/л	5,8±0,4	6,1±0,3	6,2±0,4
Гемоглобин, г/л	96,3±4,99	97,1±3,46	100,7±5,31
Лейкоциты, Г/л	6,0±0,5	5,6±0,4	6,0±0,4
Глюкоза, ммоль/л	2,99±0,03	2,84±0,08	3,03±0,08
Общий кальций, ммоль/л	2,82±0,07	2,78±0,09	2,83±0,07
Неорганический фосфор, ммоль/л	1,47±0,05	1,43±0,09	1,54±0,12
Общий белок, г/л	82,2±2,33	82,7±2,72	84,8±2,04
Альбумины, г/л	36,1±2,45	35,2±1,78	39,3±2,54
Альбумины, %	43,8±2,24	42,6±1,09	46,2±2,34
Глобулины, %	56,2±2,41	57,4±2,12	53,8±2,53
Общий билирубин, ммоль/л	3,44±0,44	3,69±0,25	3,87±0,298
АЛТ, Од/л	58,5±4,56	56,5±8,78	58,0±6,22
АСТ, Од/л	80,7±4,1	80,3±4,1	77,3±4,1
ЛДГ, Од/л	2942,4±113,04	2448,0±273,34	2414,2±224,64
ЛФ, Од/л	118,3±20,3	119,1±8,06	132,0±14,45
Креатинин, мкмоль/л	119,0±12,25	111,2±7,88	124,1±4,93
Мочевина, ммоль/л	2,29±0,22	2,84±0,39	2,15±0,26
Холестерин, ммоль/л	3,33±0,24	2,92±0,08	3,81±0,20
Триглицериды, ммоль/л	0,22±0,02	0,18±0,02	0,26±0,04

По содержанию в крови общего белка и билирубина до, а также после отела достоверной разницы не установлено, но у коров при задержании последа концентрация общего белка была выше на 3,2%.

Содержание абсолютного и процентного показателей альбуминов перед отелом было выше, а при задержании последа – наибольшим, в сравнении с животными, которые отелились.

Динамика содержания глобулинов характеризовалась наивысшей концентрацией у коров после отела (57,4±2,12%), наименьшей – при задержании последа (53,8±2,53%).

Активность информативных ферментов, в зависимости от состояния коров, характеризовалась некоторыми особенностями: АЛТ у коров перед отелом была наивысшей (58,5±4,56 Од/л), после отела – наименьшей (56,5±8,78 Од/л), а при задержании последа повышалась сравнительно с коровами после отела (58,0±6,22 Од/л) и была одинаковой, как у коров перед отелом; активность АСТ была одинаковой у коров до (80,7±4,1 Од/л) и после отела (80,3±4,1 Од/л) и снижалась до 77,3±4,1 Од/л у коров при задержании последа; активность ЛДГ имела аналогичную, но более выраженную тенденцию к снижению (2942,4±113,04 – 2448,0±273,34 – 2414,2±224,64 Од/л); активность ЛФ у коров до (118,3±20,3 мкмоль/л) и после отела (119,1±8,06 мкмоль/л) достоверно не отличалась, а у коров при задержании последа увеличивалась до (132,0±14,45 мкмоль/л). Не исключено, что увеличение концентрации АСТ и АЛТ в крови коров на последнем месяце стельности и сразу после отела является признаком субклинического токсикоза беременных [4, 5].

Концентрация креатинина у коров после отела, в сравнении с стельными, понизилась с 119,0±12,25 до 111,2±7,88 мкмоль/л (на 7,0%), а при задержании последа увеличилась до 124,1±4,93 мкмоль/л в сравнении с стельными коровами (119,0±12,25 и 124,1±4,93 мкмоль/л) и после отела (111,2±7,88 и 124,1±4,93 мкмоль/л).

Наибольшая, но недостоверная, концентрация мочевины была выявлена у коров после отела (2,84±0,39 ммоль/л), а наименьшая – при задержании последа (2,15±0,26 ммоль/л).

Концентрация холестерина и триглицеридов также изменялась соответственно состоянию коров: при задержании последа она была наибольшей (3,81±0,20 та 0,26±0,04 ммоль/л соответственно) в сравнении со стельными коровами (3,33±0,24 та 0,22±0,02 ммоль/л) и коровами после отела (2,92±0,08 та 0,18±0,02 ммоль/л).

При отсутствии воспалительного процесса происходит разрушение тканей плаценты с образованием токсических продуктов, которые, всасываясь в кровь и лимфу, влияют на гепатоциты. Наше предположение подтверждается тем, что в крови коров при задержании последа увеличивается, кроме содержания креатинина, холестерина и триглицеридов, активность щелочной фосфатазы.

Увеличение содержания общего белка в крови коров с задержанием последа при увеличении количества альбуминов и уменьшении глобулинов можно расценивать как тенденцию к снижению общей резистентности организма животных, про что также свидетельствует снижение концентрации мочевины [1, 7].

Повышение концентрации глюкозы у коров при задержании последа можно считать как резерв энергетического материала организма, что обеспечивает течение инволюционных процессов в матке.

Заключение. На основании проведенных исследований были сделаны следующие выводы:

1. Достоверной разницы по составу крови коров перед отелом и после физиологического его течения не установлено, но у коров после отела, в сравнении с коровами до отела, выражена тенденция к увеличению в крови количества эритроцитов, глюкозы, неорганического фосфора, общего кальция, альбуминов, АЛТ, ЛДГ.

2. В крови коров при задержании последа, в связи с интоксикацией организма, увеличивается активность щелочной фосфатазы, содержание креатинина, холестерина, глюкозы, общего белка и альбуминов, в сравнении с коровами до и после отела.

Литература. 1. Ветеринарна клінічна біохімія // [В.І. Левченко, В.В. Влізло, І.П. Кондрахін та ін.]; під редакцією В.І. Левченка і В.С. Гаяса. – Біла Церква, 2002. – 400 с. 2. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення

тварин з основами андрології: підручник / [Яблонський В.А., Хомин С.П., Калиновський Г.М. та ін.]. – Вінниця: Нова Книга, 2006. – 592 с. 3. Влізло В.В. Клінічний статус та показники гемопеву лактуючих корів у господарствах Житомирського Полісся / В.В. Влізло, І.П. Лізоміна // Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин. – Вип. 5. №3. Львів, 2004. – С. 160-163. 4. Захарін В.В. Біохімічний склад крові корів-первісток до і після родів / В.В. Захарін // Збірник наукових праць ЛНАУ. Серія Ветеринарні науки. – №92. – 2008. – С. 64–68. 5. Захарін В.В. Біохімічний статус крові нетелей чорно-рябої породи, до і після отелення, вирощених на Житомирщині / В.В. Захарін // Вісник ПДАА. – Вип. 3. – 2007. – С. 153–157. 6. Зверева Г.В. Акушерська і гінекологічна диспансеризація у системі профілактики неплідності та маститів у корів. / Г.В. Зверева, С.П. Хомин, В.І. Тирановець, М.Г. Андросюк // Вісник НАУ Наукові проблеми ветеринарної медицини. – Вип. 22. – 2000. – с. 21- 23. 7. Левченко В.І. Дослідження крові тварин та клінічна інтерпретація отриманих результатів. / [В.І. Левченко, В.М. Соколюк, В.М. Безух та ін.]. Методичні рекомендації – Біла Церква, 2002, 56 с. 8. Яблонський В.А. Відтворювальна здатність корів в умовах кризового стану господарства. / В.Я. Яблонський, В.І. Любецький, С.К. Юхимчук та ін. // Вісник НАУ Наукові проблеми ветеринарної медицини. – Вип. 22. – 2000. – с. 75- 77. 9. Bencharif D., Tainturier D., Slama H., Prostaglandins and postpartum period in the cow // Revuede-Medecine-Veterinaire. – 2000.- Vol.151, №5. – P.401-408.

Статья передана в печать 08.04.2015 г.

УДК 636.934.57:611.441.019

ГИСТОСТРУКТУРА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОРОК ЦВЕТОВОГО ТИПА САПФИР И СКАНБЛЭК В ОСЕННИЙ ПЕРИОД В СВЯЗИ СО «СТРИЖКОЙ» ВОЛОСЯНОГО ПОКРОВА

Демченко Я.С., Ревякин И.М.

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

В статье, на примере норок цветовой типов сапфир и сканблэк, с позиций гистологических исследований, рассматривается вероятность причастности щитовидной железы к «стрижке» волосяного покрова. В сравнительном аспекте даны описания особенностей гистоструктуры органа у зверей, указанных цветовой типов, в осенний период.

In article, on the example of minks of color types sapphire and scanblack, from positions of histologic researches, is considered probability of participation of a thyroid gland in indumentum "hairstyle". In comparative aspect descriptions of features of a histostructure of organ at animals of the specified color types during the autumn period are given.

Ключевые слова: гистология, волосяной покров, щитовидная железа, фолликул, норка.

Keywords: histology, indumentum, thyroid gland, follicle, mink.

Введение. Известно, что клеточное пушное звероводство является отраслью животноводства, где качество конечной продукции определяется состоянием волос животного. Среди объектов отрасли наиболее сложно устроен волосяной покров американской норки, который в морфофункциональном плане представляет собой многоярусную мультикомпонентную структуру, характеризующуюся целым рядом сложных физиологических процессов. Характерной особенностью этих процессов, в отличие от большинства других домашних животных, является их строгая сезонная динамика, при которой циклы анагена, катагена и телогена последовательно сменяют друг друга два раза в год. При этом последовательность циклов сочетается с последовательностью смены категорий волос, когда в первую очередь происходит закладка и обновление покровных волос (направляющих и остевых), а затем, под их защитой – многочисленных категорий пуховых. В природе данные процессы протекают слаженно и без сбоев. В условиях же неволи на норку воздействуют мощные антропогенные факторы, среди которых наиболее существенное значение, не считая гиподинамии, приобретают доместикационные изменения, заключающиеся в многократном укрупнении зверей на фоне их генетического «расчленения». Иными словами, человеком были выведены многочисленные мутантные типы норок, имеющие различную окраску, многие из которых в несколько раз крупнее своих диких предков. В связи с этим становится очевидным, что столь радикальные преобразования не могли не затронуть и волосяной покров норок, что выразилось в появлении целого ряда деструктивных явлений неясной этиологии: «сеченность», «теклость», «стрижка». Среди них, наиболее «загадочным» процессом является «стрижка», проявляющаяся как внезапное, поэтапное исчезновение волосяного покрова непосредственно после окончания линьки [5].

Среди теорий, пытающихся пролить свет на феномен «стрижки» волосяного покрова, некоторого внимания заслуживает теория, связанная с гипофункцией щитовидной железы – органа, имеющего прямое отношение к росту и формированию волос [4,8,9]. Ее сторонники приводят гистологическое описание органа у пораженных животных, в котором отмечается повышенная пролиферация фолликулярных эндокриноцитов. У контрольных же норок (без дефекта) тироциты имели кубическую форму и шаровидные ядра. Коллоид, секретлируемый ими, заполнял в виде гомогенной массы весь просвет фолликула [4,9]. Приведенные данные, по мнению авторов, свидетельствуют об атрофии щитовидной железы и ее гипофункции. Далее приводятся результаты исследований крови, которые показывают более низкий уровень трийодтиронина и тироксина у больных норок, по сравнению со здоровыми [9]. При этом, на наш взгляд, в интерпретации результатов, авторами упускается несколько существенных моментов, связанных с особенностью биологии американской норки. В первую очередь, эти особенности касаются сезонного изменения уровня обмена веществ, который максимален летом и минимален зимой. Щитовидная железа, играющая далеко не последнюю роль в обменных

процессах, должна претерпевать определенную морфофункциональную сезонную перестройку, сущность которой, на сегодняшний день, у норок не описана. Имеется лишь общее описание гистоструктуры [1]. В связи с этим не совсем ясен и нормальный гормональный статус органа. Имеющиеся в литературе на этот счет данные крайне противоречивы, что, видимо, объясняется получением их в разных лабораториях с применением различных методик и диагностических наборов [2, 3, 6, 7]. Имеются единичные указания на различную гормональную активность железы у зверей различных цветовых типов [7]. Следовательно, учитывая резкие различия в строении их волосяного покрова, логично предположить, что и органы, отвечающие за его формирование, также имеют некоторые особенности.

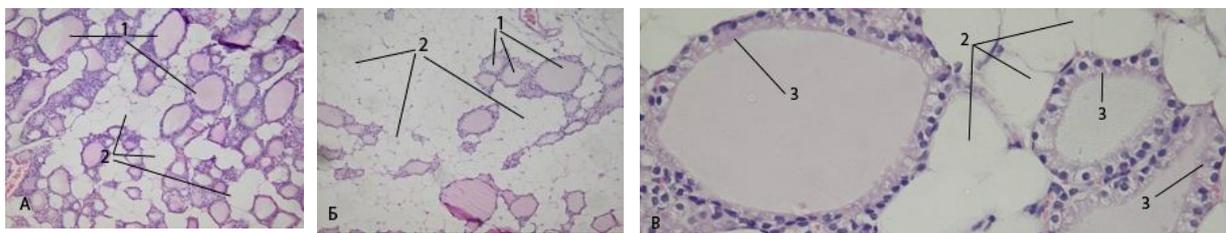
В связи с вышеизложенным, нами была исследована гистоструктура щитовидной железы в осенний период у норок цветových типов сапфир и сканблэк, с учетом поражения этих животных «стрижкой» волосяного покрова. Норки сапфир принадлежат к восточному типу селекции и являются длинноволосыми представителями своего вида. Норки сканблэк – типичные коротковолосые разновидности западного типа, появившегося в хозяйствах нашей республики сравнительно недавно.

Материал и методы исследований. Материалом для исследований послужили щитовидные железы, полученные от 8-ми месячных клеточных американских норок, во время планового осеннего забоя в УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза» в 2013 и 2014 гг. В 2013 году исследования коснулись 8 норок цветového типа сапфир, 4 из которых имели признаки «стрижки» волосяного покрова. В 2014 году аналогичные исследования, в тех же пропорциях, были повторены на норках сканблэк.

Для гистологических исследований, непосредственно после убоя, щитовидные железы извлекались и фиксировались в 10% нейтральном растворе формалина. После этого, по общепринятой методике, были изготовлены гистологические препараты с окраской гематоксилином-эозином. По ним осуществляли гистологическое описание препаратов с проведением морфометрических исследований. В процессе морфометрии учитывали количество фолликулов на 1мм^2 и их площадь. Кроме того, учтенные фолликулы железы были ранжированы на крупные ($>200\text{ мкм}$), средние ($70\text{-}200\text{ мкм}$) и мелкие ($<70\text{ мкм}$) с вычислением их процентного соотношения в свете физиологического состояния зверей (больные, здоровые) и их цветového типа. Полученные таким образом данные были проанализированы и обработаны статистически по общепринятой методике.

Результаты исследований. В результате проведенных исследований был подтвержден тот факт, что щитовидная железа американской норки представляет собой небольшие компактные образования, две доли которых лежат по обе стороны от трахеи. Между долями имеется слабовыраженный, предположительно соединительно-тканый, перешеек. Гистологическая структура у всех исследованных животных имеет классический для рассматриваемого органа принцип строения. Стромальные элементы представлены капсулой и, проникающими вовнутрь железы, соединительно-ткаными перегородками, которые у американской норки развиты относительно слабо. Местами в этих образованиях отчетливо заметны кровеносные сосуды, осуществляющие кровоснабжение паренхимы органа. В исследованных препаратах они не изменены, кровенаполнены и оплетены прослойками рыхлой соединительной ткани. Паренхима железы образована замкнутыми пузырьками – фолликулами, между которыми лежат скопления эпителиальных клеток. По своей природе эти скопления представляют собой интерфолликулярный эпителий, а также тангенциальные разрезы через стенки фолликулов. Ввиду того, что серийных срезов изготовлено не было, четко идентифицировать обозначенные элементы друг от друга не удалось. Стенка фолликулов образована эпителием, расположенным на тонкой базальной мембране. Полость заполнена накапливающимся секреторным продуктом – коллоидом.

Гистологический анализ щитовидной железы у норок цветového типа сапфир и сканблэк, пораженных «стрижкой» волосяного покрова, по сравнению с животными без данного порока, не выявил заметных качественных и количественных отличий. Однако у всех зверей обоих типов железа находилась в состоянии периферической интерфолликулярной жировой инфильтрации разной степени выраженности (рисунок 1).



Окраска гематоксин-эозин; А, Б $\times 10$; В $\times 40$; А, Б – разная степень жировой инфильтрации; В – изменения в фолликулярном эпителии при инфильтрации; фолликулы; 2 – жир; 3 – фолликулярный эпителий (тироциты)

Рисунок 1 – Щитовидная железа норки с признаками жировой инфильтрации

Жировая ткань проникала в паренхиму органа со стороны капсулы, вытесняя тем самым интерфолликулярный эпителий. При этом фолликулярный эпителий, локализованный в тех фолликулах, которые окружены жиром, существенно изменяется, переходя в состояние зернистой дистрофии (рисунок 1В). Форма тироцитов тех фолликулов, которые не окружены жиром, варьирует от плоской, с уплощенными ядрами, до кубической, с округлыми ядрами, расположенными в центре клеток.

Основные отличия, касающиеся как качественных особенностей органа, так и количественных, нами были выявлены при сопоставлении его гистоструктуры у норок различных цветовых типов. Часть из них касается соединительно-тканной капсулы, которая у норок цветového типа сапфир достоверно тоньше ($48\text{-}50$

мкм), чем у сканблэк (60-62 мкм). Данное отличие, по-видимому, стало возможным за счет большего содержания в капсуле железы норок сканблэк жировой ткани, которая в различных ее участках сконцентрирована неравномерно.

Наиболее существенные межтиповые отличия затронули паренхиму и в первую очередь ее основные элементы – фолликулы, данные по которым помещены в таблицу 1.

Таблица 1 - Морфометрические показатели структурных компонентов щитовидной железы норок сапфир и сканблэк

Цветовой тип норок	Диаметр фолликулов, мкм	Количество фолликулов на 1 мм ² гистопрепарата, шт	Соотношение фолликулов на 1мм ² гистопрепарата, %		
			крупные	средние	мелкие
Сапфир	89,44±8,800*	10,00±2,800	2,04	87,65	10,31
Сканблэк	226,80±24,860*	11,88±1,680	54,20	40,08	5,72

Примечание: *разница достоверна при $p \leq 0,05$

Из данных таблицы 1 заметно, что средний диаметр фолликулов щитовидной железы у норок цветового типа сапфир в 2,5 раза меньше, чем у норок сканблэк. При этом, их количество на 1 мм², с несущественной разницей в 1,88 фолликул, примерно одинаково. При анализе соотношения фолликулов разного размера на единицу площади становится очевидным, что в структуре органа норок сапфир преобладают фолликулы среднего размера, в то время как количество крупных – минимально. Мелкие же фолликулы в этом соотношении занимают промежуточное положение. У норок сканблэк соотношение диаметрально противоположено: больше половины фолликулов имеют крупный диаметр. Средних же на 14,12% меньше. Наконец, присутствие мелких фолликулов минимально.

Локализация фолликулов у зверей рассматриваемых цветовых типов также неодинакова. У норок сапфир средние фолликулы, составляющие большинство, локализованы равномерно, а мелкие располагаются группами по 10-12 шт. У представителей типа сканблэк локализация крупных фолликулов тяготеет к центру, а мелкие и средние фолликулы располагаются в основном на периферической части органа, группами по 5-7 штук. В редких случаях среди них встречаются небольшие группы особо крупных фолликулов.

В подавляющем большинстве фолликулов щитовидной железы у норок цветового типа сапфир отмечен застой коллоида (отсутствуют резорбирующие вакуоли), что, по всей видимости, приводит к трансформации (гистологической аккомодации) кубического эпителия в плоский. Часть тиреоидного эпителия вне фолликулов находится в состоянии зернистой дистрофии. В аналогичном органе норок сканблэк, напротив, происходит активная резорбция тиреоглобулина, что проявляется в виде вакуолей, располагающихся преимущественно в пограничных с эндокриноцитами областях. Местами в полости фолликулов отмечается десквамация эпителия.

Заключение. Таким образом, проведенные нами морфоморфологические исследования щитовидной железы не дают основания считать этот орган причастным к этиологии «стрижки» волосяного покрова норок. Тем не менее, сравнительная гистологическая картина, выявленная в ходе исследований, заставляет признать факт значительной изменчивости микроархитектоники органа у американской норки в условиях клеточного разведения, что на первый взгляд связано с цветовыми типами норок (сапфир и сканблэк). Однако, учитывая крайне слабую изученность морфологии щитовидной железы в сезонном аспекте, факт межтиповых различий железы можно поставить под сомнение. Такое гистологическое строение у норок сапфир, на наш взгляд, характерно для состояния, когда гиперфункция переходит в гипофункцию и вероятнее всего связана с сезонной перестройкой органа. У норок сканблэк такая перестройка могла уже произойти, либо еще не начаться. Косвенным подтверждением этому служит тот факт, что железы, хотя и были отобраны в одном хозяйстве и в один сезон, но все же в разные годы. В этом случае на скорость морфофункциональной перестройки, (естественно, при наличии таковой) могли повлиять как погодные условия, так и кормовые факторы. С последними, возможно, связана и упомянутая в работе жировая инфильтрация органа, описание аналога которой в доступной литературе нам обнаружить не удалось. Возможно, данное явление является процессом патологическим, но вполне вероятно, что это – закономерный физиологический процесс. В связи с этим, для объяснения фактов, раскрытых в данной статье, необходимы дальнейшие, более детальные исследования.

Литература. 1. Абрамов, П.Н. Морфологическая структура щитовидной железы у норок / П.Н. Абрамов, В.Н. Авдеев // Сборник научных трудов молодых ученых: Сб. статей / МГАВМиБ. М.: 2009. С. 215. 2. Влияние искусственно вызванной гипофункции щитовидной железы на рост и иммунный статус норок / С.И. Лютинский [и др.] // Физиологические и биохимические основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных, птиц и пушных зверей : сбор. науч. тр. Ленинградского вет. ин-та. – Ленинград, 1989. – № 98. – С. 52-55. 3. Зеленов, Ю.Н. Тиреоидно-инсулиновый профиль крови у норки, соболя и песца / Ю.Н. Зеленов // Материалы Международной научно-практической конф., посвященной 75-летию образ. зооинженерного факультета Казанской гос. акад. вет. медицины. – Казань, 2005. – С. 293-296. 4. Квартникова, Е. Г. Еще раз о «стрижке» волосяного покрова / Е. Г. Квартникова // Кролиководство и звероводство. – 1995. – № 3. – С. 10. 5. Ревякин, И.М. «Стрижка» волосяного покрова норок в контексте медицинской трихологии / И.М. Ревякин, И.В. Тихоновская, О.А. Кузьмина // Ученые записки УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практич. журнал / УО АГАВМ; под ред. А.И. Ятусевича.– Витебск, 2014. – Т. 50, вып.1, ч.1 – С. 130–134. 6. Сантурян Ф.Э. Влияние скормливания хлористого аммония (ХКА) на функцию щитовидной железы норок / Ф.Э. Сантурян // Совершенствование технологии кормления сельскохозяйственных животных : межведомственный сбор. науч. тр. / МВА. – Москва, 1986. – С. 89 – 91. 7. Сироткина, Л.Н. Гормональная функция щитовидной железы, коры надпочечников и гонад у пушных зверей в период постнатального онтогенеза и репродукции / Л.Н. Сироткина, Н.Н. Тютюнник // Сельскохозяйственная биология. Биология животных. – 1999. – № 6. – С.94 – 99. 8. Супрун, А. А. Профилактика дефекта "стрижки" волосяного покрова норок / А. А. Супрун // Новые энергосберегающие технологии в зоотехнии и ветеринарии : материалы Международного научно-практического семинара, 10-11 ноября 2005 г. / Калининградский государственный технический университет. – Калининград, 2005. – С.

172–178.9. Установление закономерных связей элементов питания в этиологии «стрижки» норок : (материал к изучению темы) / Н. Е. Куликов [и др.] – Москва : Российская академия менеджмента и агробизнеса, 1996. – 31 с.

Статья передана в печать 30.04.2015 г.

УДК 619:616.992.28:636.085.55

МОНИТОРИНГ СОДЕРЖАНИЯ МИКОТОКСИНОВ В КОРМАХ

Дубина И.Н., Рябинкова И.М., Притыченко А.В., Притыченко А.Н.

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

Своевременный мониторинг наличия микотоксинов в комбикормах и сырье для их производства позволяет заблаговременно провести профилактические мероприятия, предотвращающие развитие микотоксикозов у сельскохозяйственных животных и птицы.

Well-timed monitoring of existence of mycotoxins in compound feeds and raw materials for their production allows to hold beforehand the preventive events preventing poisoning with mycotoxins in farm animals and a birds.

Ключевые слова: микотоксины, комбикорма, контаминация, иммуноферментный анализ, афлатоксин, охратоксин, фумонизин, зеараленон, ДОН, Т-2 токсин.

Keywords: mycotoxins, compound feeds, kontamination, enzyme immunoassay, aflatoxin, ochratoxin, fumonisin, zearalenone, DON, T-2 toxin.

Введение. Высокие темпы роста населения в мире требуют увеличения производства продукции сельского хозяйства. Комплексные мероприятия в области снабжения продовольствием, получившие самостоятельную значимость, являются одним из главных "структурных блоков" национальной безопасности всех стран. Для Республики Беларусь продовольственная безопасность является не только условием сохранения суверенитета и независимости государства, но и фактором поддержания конъюнктуры национального и региональных продуктовых рынков, обеспечивающих достаточный уровень сбалансированного питания населения и эффективного развития внешнеторговых продовольственных и сырьевых связей, усиление экспортной ориентации агропромышленного комплекса.

Одной из существенных проблем, сдерживающих эффективное развитие животноводства на территории Беларуси, является высокая степень контаминации кормов микотоксинами.

Микотоксины – вторичные, низкомолекулярные метаболиты плесневых грибов, они могут поражать как корма, так и пищевые продукты. По данным FAO (Организации по сельскому хозяйству и продовольствию при ООН), от 25% до 30% зерна, производимого в мире, заражено микотоксинами [5]. На сегодняшний день известны более трёхсот микотоксинов, продуцентами которых являются представители царства Fungi и относящиеся к родам: *Fusarium*, *Aspergillus*, *Stachybotrys*, *Penicillium* и других представителей. Большинство из них проявляют токсическое действие в отношении животных и птицы [6, 7].

Нормируемые в Республике Беларусь микотоксины продуцируются в основном грибами родов *Aspergillus*, *Penicillium* – афлатоксины, охратоксины, зеараленон; *Fusarium* – дозоксиниваленол, Т2-токсины, фумонизины.

Микотоксинам присущи канцерогенные, мутагенные, тератогенные, эмбриотоксические, аллергические, иммунодепрессивные свойства, а также способность снижать иммунный статус организма к возбудителям инфекционных и неинфекционных болезней. Микотоксины обладают одним общим свойством – они являются биоцидами, разрушающими живые клетки. [1, 2].

Микотоксины очень стабильны и термоустойчивы. Экструдирование и гранулирование их не разрушают. Очень часто корма поражаются несколькими видами микотоксинов, которые оказывают взаимоусиливающее действие, и опасны даже в небольших количествах, ниже уровня ПДК. Сила токсического воздействия зависит от дозы и времени поступления их в организм, комбинации микотоксинов, совместного действия. При этом предугадать их взаимодействие очень трудно, так как оно зависит не только от сочетания отдельных видов токсинов, но и от концентраций, которые никогда не повторяются. Острое течение отдельных микотоксикозов встречается редко. Чаще отмечается хроническое, вызванное длительным поступлением в организм небольших доз нескольких микотоксинов одновременно. При таком сочетанном характере наличия микотоксинов в кормах клиническая картина микотоксикозов животных имеет стёртый характер. Общими симптомами интоксикации при сочетанных микотоксикозах являются – вялость, жажда, снижение аппетита и продуктивности, обезвоживание организма. Специфические признаки варьируют в зависимости от сочетания, концентрации каждого из них, времени воздействия, уровня кормления и продуктивного направления животных и птицы [1, 2, 5].

Заплесневение кормов может происходить как в поле, в период вегетации, так и при производстве, хранении и скармливании. Во всех случаях образованию плесени способствуют повышенная влажность и температура. Особенно подвержено воздействию плесневых грибов дробленое зерно. Качественная сушка, предварительная подготовка кормохранилищ, применение различных консервантов минимизируют рост соответствующих представителей царства Fungi и накопление микотоксинов. Нельзя допускать скопления остатков корма в кормушках, так как при этом происходит образование плесени.

Все имеющиеся и поступающие в хозяйства корма должны находиться под постоянным контролем ветеринарной службы, использоваться в рационах с учётом их микотоксикологического анализа и санитарного состояния. Образцы проб кормов исследуют на наличие микотоксинов с помощью различных методов, которые можно подразделить на три основные группы: биологические, химические и физико-химические. В ветеринарной лаборатории проводят органолептический, токсикологический, микологический, физико-химический, иммунологический анализ образцов корма в соответствии с действующими ТНПА. Большинство лабораторий для идентификации микотоксинов в настоящее время проводят иммуноферментный анализ (ИФА), используя диагностикумы разных производителей. Данный метод относится к экспресс-методам с высокой чувствительностью и специфичностью, он позволяет определить содержание шести регламентируемых микотоксинов (афлатоксин, охратоксин, фумонизин, зеараленон, ДОН, Т-2) [4].

В связи с вышеизложенным, определение степени поражения кормов микотоксинами в различных регионах Республики Беларусь, а также поиск и разработка эффективных и доступных средств для профилактики микотоксикозов животных, получения высококачественных продуктов питания животного происхождения является актуальной проблемой.

Целью исследования являлась оценка степени загрязнения кормов и фуражного зерна микотоксинами, а также определение преобладающих видов микотоксинов в различных областях Республики Беларусь.

Материал и методы исследований. В течение 2014 года лабораторному исследованию на наличие микотоксинов было подвергнуто 104 образца кормов, доставленных из различных регионов Республики Беларусь в научно-исследовательский институт прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины».

Исследования кормов выполнялись в отделе научно-исследовательских экспертиз НИИПВМиБ, аккредитованном в соответствии с СТБ ИСО/МЭК 17025, регистрационный номер: ВУ/122 02. 1.0.0870.

В исследуемых кормах определялось содержания пяти регламентируемых микотоксинов: афлатоксин, охратоксин, зеараленон, дезоксиниваленон (ДОН), Т-2 токсин. Исследование проводили прямым конкурентным иммуноферментным методом (ИФА) с использованием тест-системы Ridascreen®FAST (Germany).

Для выполнения работ использовали приборы: ридер - фотометр универсальный Ф300 «Витязь», вошер – Dialab, шейкер-инкубатор –Dialab.

Результаты исследований подвергали статистической обработке, используя пакет анализа MicrosoftOfficeExcel 2003.

Выполнение методик сопровождали необходимыми контролями, гарантирующими достоверность и специфичность результатов.

Результаты исследований. В результате проведенных исследований установлено, что в 62 пробах из 104 проанализированных обнаружено наличие микотоксинов – 75,4%. Степень контаминации кормов микотоксинами в различных областях республики существенно отличается:

- Брестская область – 57,2%;
- Витебская область – 77,2%;
- Гомельская область – 63,6%;
- Гродненская область – 83,0%;
- Минская область – 64,6 %;
- Могилевская область – 71,4%.

В количественном отношении содержание выявленных микотоксинов в зависимости от региона также было различным (таблица 1).

Таблица 1 – Количественное содержание микотоксинов (М ±m)

	Афлатоксин, мкг/кг	ДОН, мг/кг	Зеараленон, мкг/кг	Охратоксин, мкг/кг	Т-2 токсин, мкг/кг
Брестская область	-	0,53 ±0,028	67,82 ±5,946	-	-
Витебская область	5,41±0,840	1,12±0,166	55,93±2,065	6,75±1,895	59,87±8,121
Гомельская область	1,53 ±0,360	1,11 ±0,168	79,48 ±12,289	5,14 ±1,218	64,48 ±6,915
Гродненская область	4,13 ±0,010	1,06 ±0,226	216,42 ±36,484	4,50 ±0,449	45,95 ±4,098
Минская область	-	0,62 ±0,067	42,04 ±4,610	11,05 ±1,820	58,83 ±5,95
Могилевская область	4,11 ±0,788	0,85 ±0,119	39,94 ±1,979	2,69 ±0,230	68,79±3,791

Исходя из результатов количественной оценки уровня содержащихся микотоксинов в кормах, можно сделать вывод, что наиболее часто в концентрациях, превышающих ПДК, выявлялись такие микотоксины, как дезоксиниваленон (ДОН) и Т-2 токсин, в концентрациях, приближенных к ПДК, – зеараленон и охратоксин. Чаще всего содержание микотоксинов на уровне ПДК отмечалось в Гродненской, Витебской и Гомельской области.

Содержание афлатоксина в кормах в концентрациях, превышающих ПДК, нами не было установлено. Также крайне редки случаи выявления наличия афлатоксина в концентрациях, составляющих 50% и более от ПДК.

В зависимости от региона республики также отличалось преобладание тех или иных микотоксинов. Так, в положительных пробах кормов из хозяйств Витебской области отмечен высокий процент загрязнения охратоксином и Т-2 токсином, присутствие дезоксиниваленола и зеараленона обнаружено в 75% контаминированных образцов (рисунок 1).

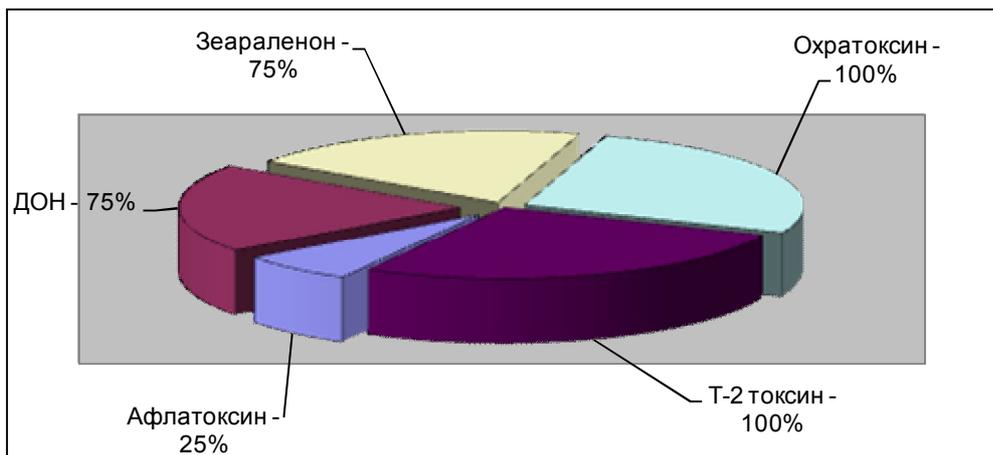


Рисунок 1 - Распределение микотоксинов в положительных образцах кормов Витебской области

В кормах, доставленных из хозяйств Гомельской области, выражена контаминация дезоксиниваленолом. Из всех положительных проб кормов наличие дезоксиниваленола установлено в 69,23%, вдвое реже выявлялась контаминация охратоксином – в 23,07% проб, афлатоксин и Т-2 токсин – в 15,38%, и лишь 7% зеараленона (рисунок 2).

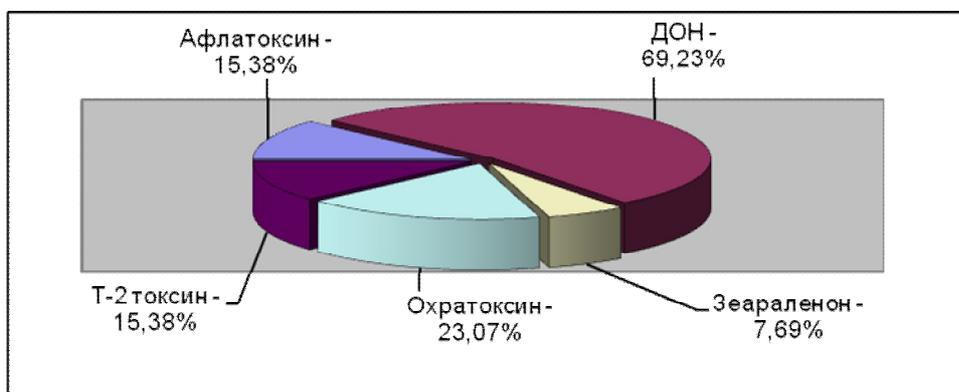


Рисунок 2 - Распределение микотоксинов в положительных образцах кормов Гомельской области

При исследовании комбикормов и зерна из хозяйств Минской области не было выявлено ни одного образца с содержанием афлатоксина. Тогда как дезоксиниваленол (ДОН), охратоксин и Т-2 токсин были обнаружены более чем в 55% положительных проб. Наличие зеараленона установлено в 33,3% положительных образцов (рисунок 3).

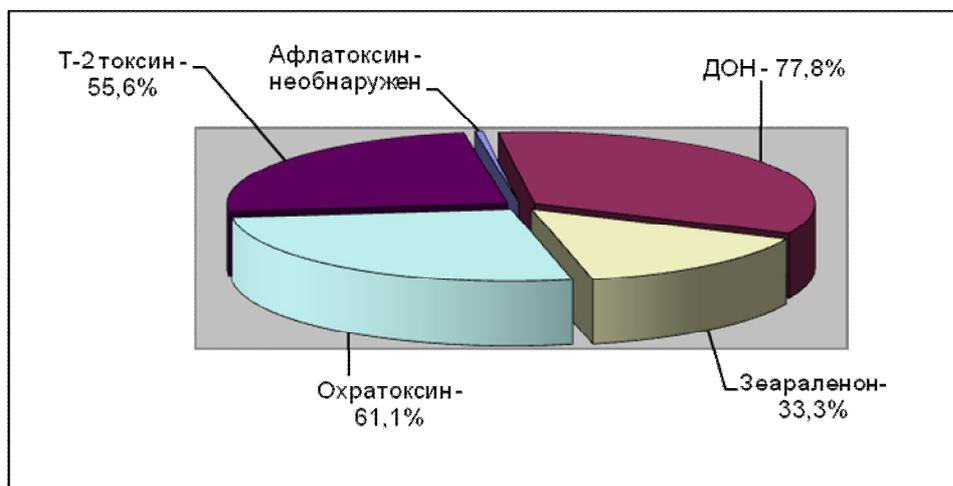


Рисунок 3 - Распределение микотоксинов в положительных образцах кормов Минской области

В кормах и зерне из хозяйств Могилевской области в ходе исследований были выявлены все пять микотоксинов, более 70% образцов содержали дезоксиниваленол и зеараленон, содержание Т-2-токсина, афлатоксина, охратоксина колебалось в пределах от 7 до 14% (рисунок 4).

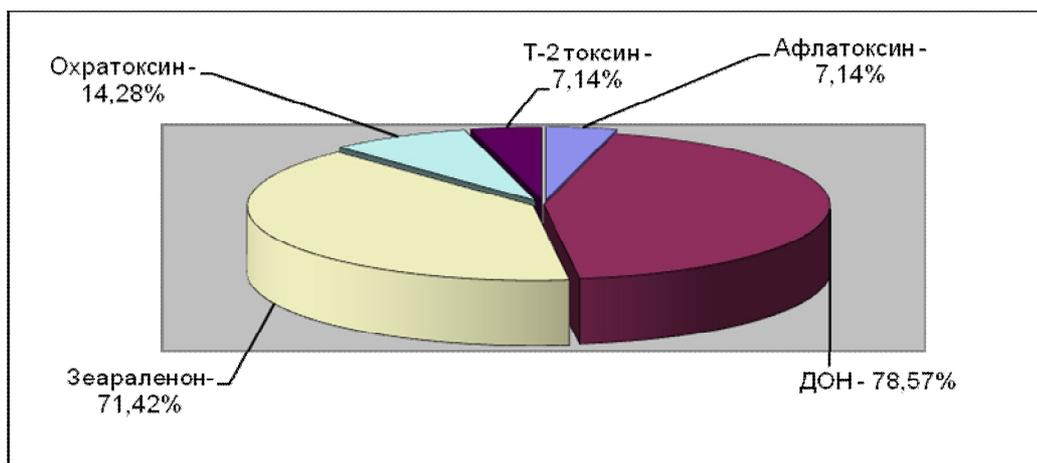


Рисунок 4 - Распределение микотоксинов в положительных образцах кормов Могилевской области

Исследованием комбикормов и зерна из хозяйств Гродненской области нами было установлено наличие в 100% положительных проб дезоксиниваленола, и на уровне 42,8% других микотоксинов – зеараленон, охратоксин, афлотоксин, Т-2 токсин (рисунок 5).

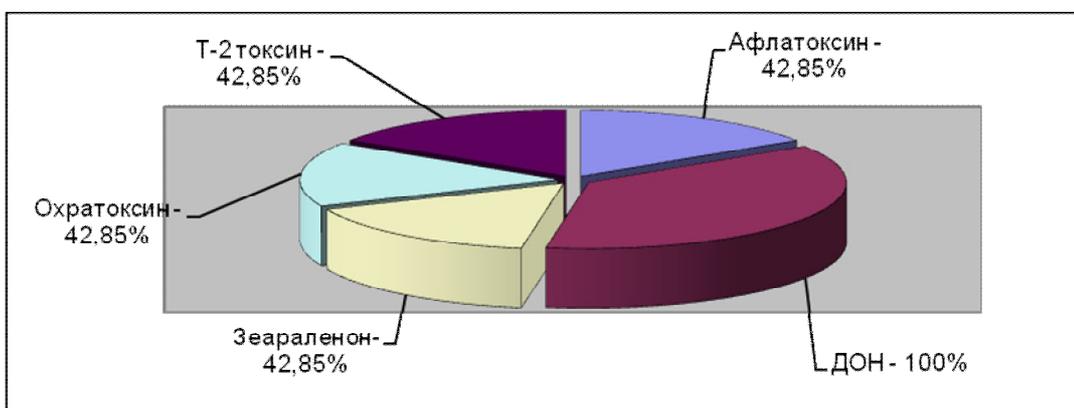


Рисунок 5 - Распределение микотоксинов в положительных образцах кормов Гродненской области

Оценка контаминированных кормов Брестской области показала наличие лишь двух микотоксинов – дезоксиниваленола и зеараленона, причем ДОН обнаружен во всех положительных пробах, а зеараленон в половине из них. Наличие афлотоксина, охратоксина, Т-2 токсина не выявлялось (рисунок 6).

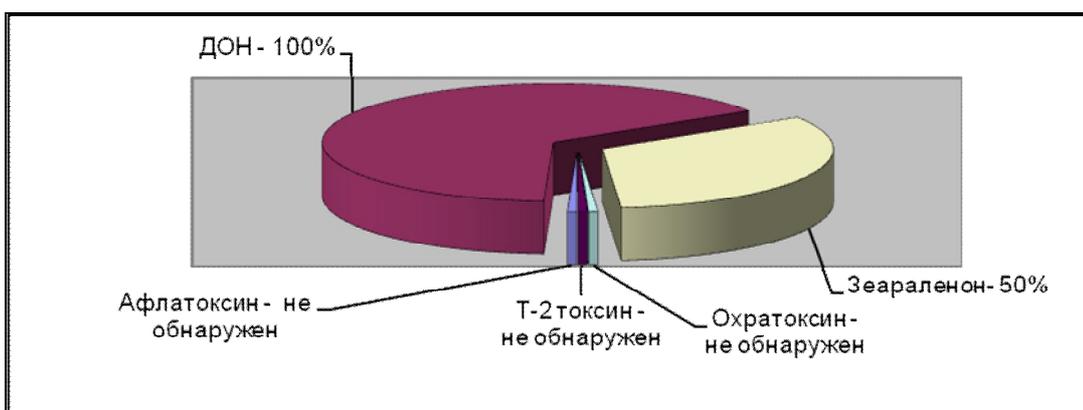


Рисунок 6 - Распределение микотоксинов в положительных образцах кормов Брестской области

Заключение. Таким образом, проведенные исследования показывают, что от 57 до 83% кормов, в зависимости от региона Республики, содержат микотоксины.

В концентрациях, превышающих ПДК, выявлялись такие микотоксины, как дезоксиниваленол (ДОН) и Т-2 токсин, в концентрациях, приближенных к ПДК, – зеараленон и охратоксин. Чаще всего содержание микотоксинов на уровне ПДК отмечалось в Гродненской, Витебской и Гомельской областях.

Все положительные пробы содержали не менее 2 видов микотоксинов одновременно. В зависимости от региона республики отличается преобладание тех или иных микотоксинов.

Контаминация кормов дезоксиниваленолом выявляется не менее в 70% проб, вне зависимости от региона Республики.

От 36 до 70% положительных проб содержат Т-2 токсин, охратоксин и зеараленон.

Одним из самым редко выявляемых микотоксинов на территории Беларуси является афлатоксин. Не было выявлено ни одной пробы кормов, доставленных из Брестской и Минской областей, содержащей афлатоксина. Наличие афлатоксина, в концентрации на уровне 5-6 мкг/кг, установлено в кормах из Витебской и Могилевской областей.

Полученные результаты показывают высокую актуальность проблемы микотоксикологической контаминации кормов Республики Беларусь, необходимость своевременного мониторинга наличия микотоксинов в сырье для производства комбикормов, что позволит заблаговременно провести профилактические мероприятия, предотвращающие накопление микотоксинов и возникновение микотоксикозов у сельскохозяйственных животных и птицы.

Литература. 1. Антипов, В. Система мероприятий по профилактике микотоксикозов животных и птиц / В. Антипов, В. Васильев // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – 2009. – № 9. – С. 18-21. 2. Брылин, А. Микотоксикозы птиц / А. Брылин // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – 2009. – № 9. – С. 22-24. 3. Жуленко, В.Н. Ветеринарная токсикология / В.Н. Жуленко, М.И. Рабинович, Г.А. Таланов – М.: Колос, 2002. – 384 с. 4. Зубовский, Дм.В. Лабораторные методы диагностики микотоксикозов [Белоруссия] / Дм. В.Зубовский, Ден.М.Зубовский // *Ветеринар. наука - пр-ву / Ин-т эксперим. ветеринарии им. С. Н. Вышелесского*. – Минск, 2009-2010. –С. 144-153. 5. Комаров, А.А. Микотоксикозы животных / А.А. Комаров, А.Н. Панин // *Методическое пособие для профессиональной переподготовки работников предприятий АПК. Международная промышленная академия. М.: Пищепромиздат, 2003. - 82 с.* 6. Тремасов, М.Л. Проблемы ветеринарной микотоксикологии / Тремасов М.Л., Никонов С.В., Павлов В.П. и др. // *Ветеринарный консультант*. – 2004. - № 19-20. – С. 17-19. 7. Тремасов, М.Я. Профилактика микотоксикозов животных в России / М.Я. Тремасов // *Ветеринария*. 2002. - №9. - с. 3-8.

Статья передана в печать 15.04.2015 г.

УДК 619.611.3:636.5.085

ПАТОМОРФОЛОГИЯ НЕФРОПАТИЙ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ У КУР

Журов Д.О.

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

В статье представлено влияние мочекишлого диатеза (подагры) на морфологию почек, а также других органов кур-несушек. Установлено, что заболеваемость подагрой приводит к развитию гистологически тяжелых и необратимых процессов в различных системах организма птиц.

In article influence of an urate diathesis (gout) on morphology of kidneys and another organs at hens-laying hens is presented. It is positioned, that the case rate a gout results to development histological serious and irreciprocal processes in various body systems of birds.

Ключевые слова: куры, почки, мочекишный диатез, патоморфологические изменения.

Keywords: hens, kidney, urate diathesis, pathomorphological changes.

Введение. Промышленное птицеводство в Республике Беларусь является высокоэффективной отраслью сельского хозяйства, которая в настоящее время интенсивно развивается и способна приносить существенную экономическую прибыль [11]. Залогом высокой эффективности и рентабельности отрасли является внедрение новых высокопродуктивных кроссов птицы, совершенствование технологии их выращивания и применение рационов, сбалансированных по основным микро- и макроэлементам.

Болезни почек и мочевыводящих путей встречаются у домашних птиц достаточно часто. Их коварство заключается в том, что нередко они имеют латентное течение и выявляются в далеко запущенных стадиях, когда функции почек значительно нарушены [4].

Почки, являясь органами мочевыделительной системы, выполняют ряд важных функций в организме птиц: удаляют излишек воды и солей и тем самым поддерживают оптимальное осмотическое давление в крови и тканях тела; обеспечивают выведение токсических веществ как эндо-, так и экзогенного происхождения, в том числе продуктов азотистого обмена (мочевой кислоты, составляющей до 78% сухого вещества мочи) и ряд других жизненно важных функций [7, 16]. Однако морфология почек и функциональные процессы, происходящие в них у кур при мочекишлом диатезе, требуют детального изучения.

Мочекишный диатез (подагра) – это заболевание, связанное с нарушением обмена веществ, характеризующееся образованием и накоплением мочевой кислоты в крови (гиперурикемия) с последующим отложением ее солей в различных тканях и органах [3, 5, 13, 14, 15].

Анализ данных ветеринарной статистики и литературных источников по указанной проблеме свидетельствует о том, что мочекишный диатез достаточно часто встречается в птицеводческих хозяйствах по всему миру. При промышленной технологии содержания мочекишный диатез регистрируется примерно у 5%, а иногда – у 15-20% поголовья птиц [1, 2, 5, 12].

По данным патологоанатомического вскрытия и лабораторных исследований мочекислым диатезом болеет взрослая птица и молодняк. Первые случаи гибели цыплят от подагры регистрируются на 20-30 день жизни, а максимальный отход регистрируется к 120-130-дневному возрасту [4, 12].

Мочекислый диатез – заболевание полиэтиологическое. Причины, которые вызывают подагру, могут быть разными: от нарушений норм и режимов содержания птицы, недостатка либо избытка белков и витаминов в кормах, до нарушений режимов инкубации яиц, из которых выводится молодняк с признаками подагры [12].

При поражении почек у птиц нарушается обмен мочевой кислоты, так как доказано, что у здоровой птицы избыточное количество эндо- и экзогенной мочевой кислоты, образующейся при распаде нуклеиновых кислот и переваримых кормов, богатых белками, легко выводится из организма. Уровень выше 360 мкмоль/л может использоваться как показатель отложения солей мочевой кислоты на серозных оболочках и во внутренних органах.

Известно, что выведение мочевой кислоты осуществляется почками, относительный размер которых у птиц достаточно велик. В этом органе происходит фильтрация из крови продуктов обмена белков и распада нуклеиновых кислот. Моча поступает в средний отдел клоаки по мочеточникам. В состав мочи входит мочевая кислота, которую из организма выводят почки посредством активной секреции. Исследования показали, что даже если концентрация мочевой кислоты в плазме крови низкая, она выделяется с мочой в больших количествах [6]. Так, соотношение мочевой кислоты в 100 мл плазмы и мочи составляет 5 мг/% : 2850 мг/% и зависит от структуры рациона. При использовании комбикорма с высоким содержанием зерна средней объем выделяемой мочевой кислоты в сутки не превышает 2 мг/%, а при даче животного белка ее содержания увеличивается до 11 мг/% [10].

Экономический ущерб, причиняемый подагрой, определяется гибелью и вынужденным убоем птицы, замедлением роста молодняка, низкой оплатой корма, потерей живой массы, снижением яйценоскости и качества инкубационных яиц, утилизацией тушек с признаками висцеральной формы болезни [4, 17].

Целью данной работы явилось изучение структурных изменений в различных системах организма кур яичных кроссов при мочекислым диатезе (подагре).

Материалы и методы исследований. Материалом для исследования служили пробы почек трупов разновозрастных групп птицы кросса «Ломан белый» из птицеводства, где наблюдали высокий уровень заболеваемости и поражения почек (до 80% от общего падежа). Одновременно отбирали кусочки печени, миокарда, легких и селезенки. Клинически у заболевших птиц отмечали отставание в росте и развитии, взъерошенность перьевого покрова, апатию, общую анемию. При вскрытии павшей птицы отмечались отложения мочекислых солей в мочеточниках, на печени, сердце и на поверхности сердечной сорочки. При макроскопическом исследовании почек установлено: орган резко увеличен в размере, выступает за пределы естественных границ. Цвет почек изменён и имеет мраморный вид. Нередко на разрезе отмечалась саловидная структура почек. В связи с этим ветеринарными специалистами хозяйства был поставлен предположительный диагноз на болезнь Марека.

Развитие уrolитиаза на фоне подагры связано, по-видимому, с избыточным содержанием в рационах кальция. В связи с этим на фоне гиперкальциемии в почках происходит осаждение трудно растворимых базофильных кристаллов урата кальция и развитие мочекаменной болезни. Отсутствие острых воспалительных процессов и опухолевых полиморфноклеточных пролифератов в почках птиц всех возрастов дало основание для исключения инфекционного бронхита и болезни Марека. Сопоставление анамнестических данных, результатов вскрытия и гистологического исследования почек позволило сделать вывод о том, что макроскопические изменения структуры данного органа (увеличение в размере, мраморный вид, саловидность на разрезе) обусловлены развитием интерстициального нефрита.

Кусочки органа фиксировали в 96% этиловом спирте. Зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике [9]. Обезвоживание и парафинирование кусочков органов проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей «MICROM STP 120» (Германия) типа «Карусель». Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию «MICROM EC 350». Гистологические срезы кусочков органов, залитых в парафин, готовили на роторном (маятниковом) микротоме «MICROM HM 340 E». Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилин-эозином [8]. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции «MICROM HMS 70».

Гистологические исследования проводили с помощью светового микроскопа «Биомед-6». Полученные данные документированы микрофотографированием с использованием цифровой системы считывания и ввода видеоизображения «ДСМ-510», а также программного обеспечения по вводу и предобработке изображения «ScopePhoto».

Результаты исследований. При гистологическом исследовании почек кур-несушек 168-дневного возраста отмечалась острая венозная гиперемия капилляров, серозный отек, зернистая и вакуольная дистрофия мочеобразующих канальцев, некроз и лизис эпителия мочеобразующих канальцев (рисунок 1).

В печени установлена зернистая дистрофия и серозный отек гепатоцитов. В паренхиме и под капсулой селезенки выявлялись множественные кровоизлияния (рисунок 2), а также серозно-фибринозный периспленит. В сердце – венозная гиперемия, гипертрофия миокарда и отек кардиомиоцитов.

В почках птиц 218-дневного возраста отмечена выраженная венозная гиперемия, серозный отек, зернистая дистрофия мочеобразующего эпителия. Также выявлялось отложение мочекислых солей кальция и натрия (с преобладанием уратов кальция) в мочеобразующих канальцах с некрозом и лизисом эпителия, интерстициальный нефрит, а также очаговая склеротизация в местах отложения уратов (рисунки 3, 4).

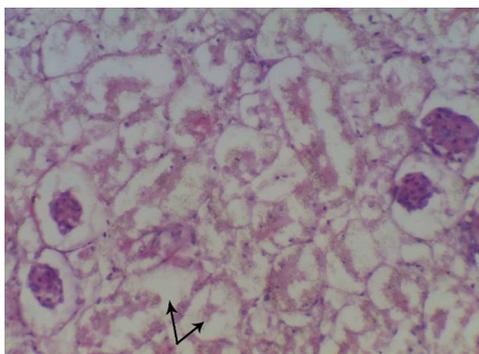


Рисунок 1 – Почка 168-дневной курицы. Вакуольная дистрофия, некроз и лизис эпителия канальцев. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

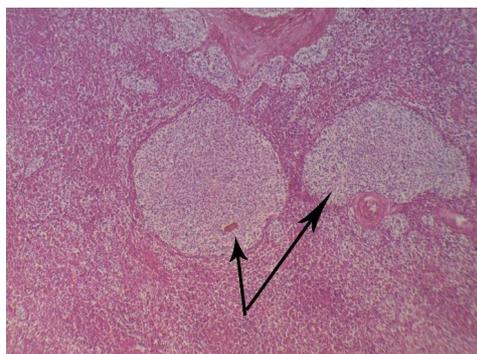


Рисунок 2 – Кровоизлияния в селезенке курицы 168-дневного возраста. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

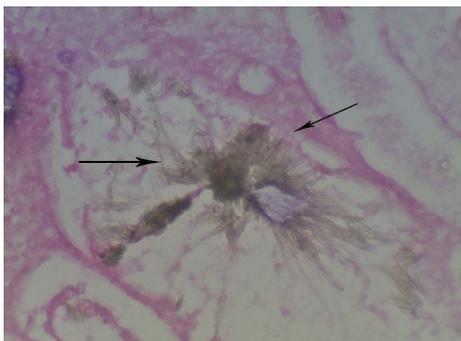


Рисунок 3 – Отложение мочеислых солей натрия, некроз и десквамация эпителия в мочеточнике курицы 218-дневного возраста. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

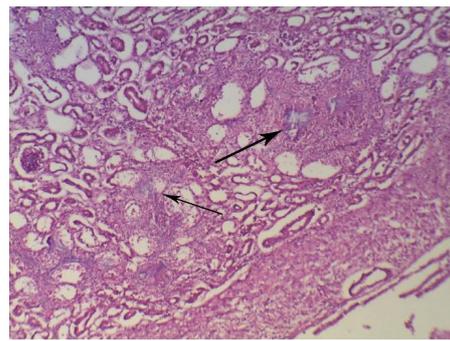


Рисунок 4 – Почка курицы 218-дневного возраста. Отложения уратов кальция в канальцах, некроз и склеротизация. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

В легких у кур-несушек данного возраста обнаружены очаги петрификации (обызвествления), фибринозно-геморрагическая пневмония, а также фибринозный плеврит (рисунки 5, 6).

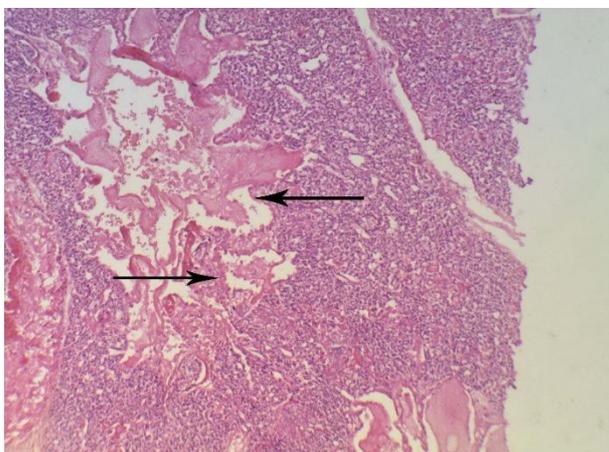


Рисунок 5 – Легкие 218-дневной курицы. Фибринозно-геморрагическая пневмония. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

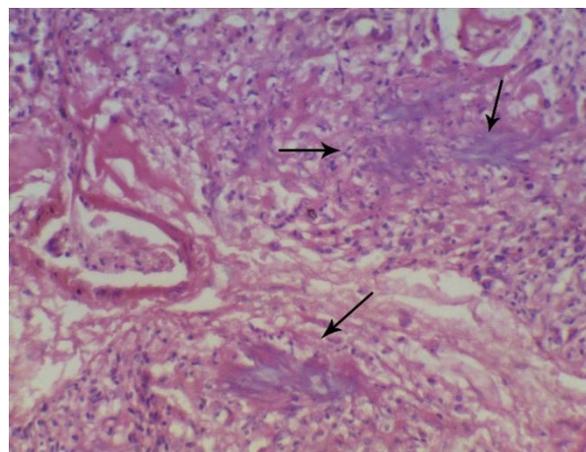


Рисунок 6 – Легкие 218-дневной курицы. Отложение солей кальция, признаки организации. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

В паренхиме печени выявляли множественные ареактивные микронекрозы, острую венозную гиперемию, зернистую, вакуольную дистрофию и отек гепатоцитов.

В пульпе селезенки выявлялись множественные микронекрозы, а в сердце – выраженная миокардиодистрофия, а также острый и подострый серозно-фибринозный перикардит.

У кур-несушек в возрасте 302 дней наблюдалось венозная гиперемия, серозный отек и отложение уратов в мочеобразующих канальцах с явлениями некроза эпителия и организации (рисунок 7). Отмечена также атрофия сосудистых клубочков (интерстициальный нефрит), атрофия эпителия собирательных трубочек, некроз и десквамация эпителия мочеточников, а также склеротизация стенки мочеточников и лимфоидно-макрофагальные пролифераты.

При этом в легких также выявлялось отложение солей кальция с явлениями некроза и организации.

В то же время в печени кур, больных подагрой, нами выявлена мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов (рисунок 8), а в сердце – гипертрофия, венозная гиперемия, отек миокарда, а также серозно-фибринозный перикардит.

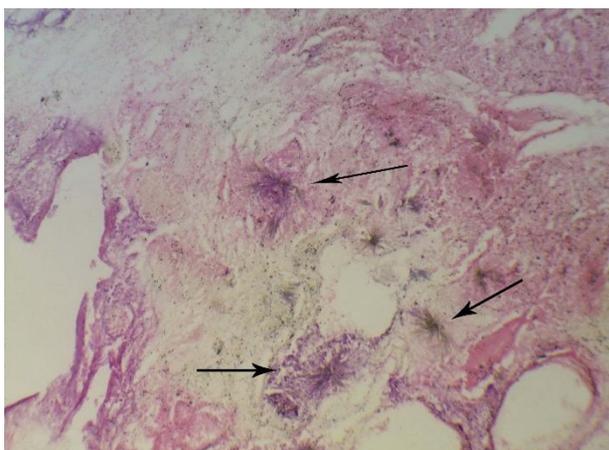


Рисунок 7 – Отложение уратов натрия в почке курицы 302-дневного возраста. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

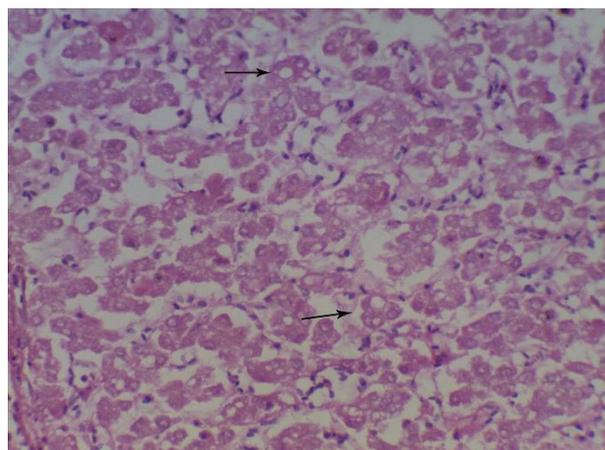


Рисунок 8 – Печень курицы 302-дневного возраста. Жировая дистрофия гепатоцитов. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

Микроскопические изменения почек кур-несушек 358-дневного возраста характеризовались острой венозной гиперемией и отложениями солей кальция в мочеобразующих канальцах. При этом наблюдалось разрастание соединительной ткани между канальцами и собирательными трубочками, а также склероз стенок артерий и мочеточников (рисунок 9).

В сердце птиц 358-дневного возраста установлен серозно-фибринозный перикардит, острая венозная гиперемия и гипертрофия миокарда (рисунок 10). В паренхиме печени обнаружены микронекрозы и острая венозная гиперемия гепатоцитов. В белой и красной пульпе селезенки – микронекрозы.

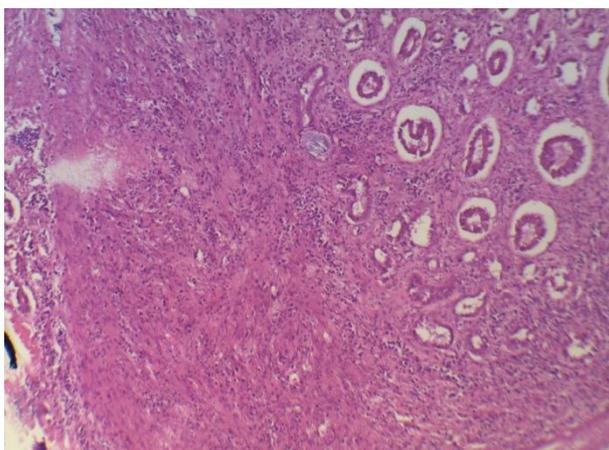


Рисунок 9 – Тотальный склероз почки курицы 358-дневного возраста. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

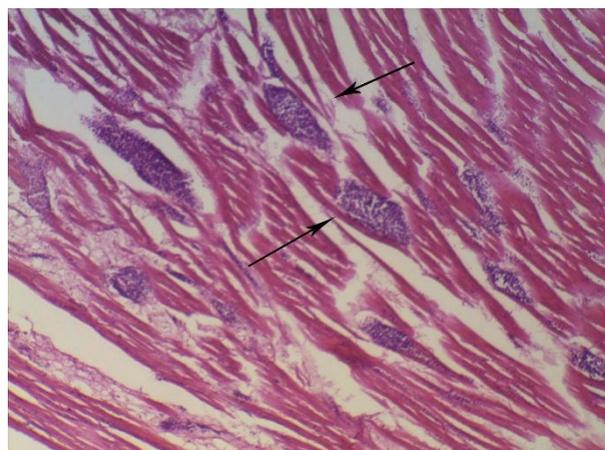


Рисунок 10 – Выраженная венозная гиперемия миокарда у курицы 358-дневного возраста. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

Заключение. Обнаруженные тяжелые и необратимые гистологические изменения у птиц всех возрастов характерны для ассоциативного течения мочекишлого диатеза (подагры) и мочекаменной болезни (уролитиаза). Явления зернистой, вакуольной и жировой дистрофии эпителия почек и печени являются следствием кормового токсикоза.

Литература. 1. Бессарабов, Б.Ф. Подагра (мочекишный диатез) / Б.Ф. Бессарабов // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. - 2007. - №8. - С. 41-43. 2. Бессарабов, Б. Ф. Подагра (мочекишный диатез) / Б. Ф. Бессарабов, И. Мельникова // *Птицеводство*. - 2001. - №5. - С. 27-29. 3. *Болезни птиц : аннот. библиогр. указ. лит. / Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных*. - Владимир : 1996 - 120 с. 4. Гахова, Н.А. *Морфологические и функциональные показатели у птиц в норме и при мочекишлом диатезе : автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук / Н.А. Гахова ; Ставроп. гос. аграр. ун-т. - Ставрополь : 2005. - 23 с.* 5. Журов, Д.О. *Патоморфологические изменения в почках кур при ассоциативном течении подагры и мочекаменной болезни на фоне кормового токсикоза / Д.О. Журов, И.Н. Громов, А.С. Алиев, А.С. Петрунин // Животноводство и ветеринарная медицина*. - 2014. - №4 (15). - С. 51-56. 6. Коровина, Н. С. *Особенности обмена мочевой кислоты у кур в зависимости от концентрации H^+ , CO_2 и HCO_3^- в крови : автореф. дис. ... канд. биол. наук : / Н. С. Коровина ; Киевский государственный университет им. Т.Г. Шевченко*. - 1986. - 19 с. 7. Крок, Г. С. *Эмбриональное развитие почек домашних птиц и переход их в постэмбриональное состояние : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Г. С. Крок ; Харьковский ветеринарный институт*. - 1954. - 20 с. 8. Лилли, Р. *Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли ; под ред. В.В. Португалова ; пер. с англ. И.Б. Краснов [и др.]*. - М.: Мир, 1969. - С. 577-592. 9. Меркулов, Г.А. *Курс патологистологической техники /*

Г.А. Меркулов. – Ленинград : Медицина, 1969. – 432 с. 10. Милоста, О. В. Мочекислый диатез у кур. Часть 1. Современные представления об этиологии и патогенезе / О. В. Милоста, И. В. Насонов // Наше сельское хозяйство. Ветеринария и животноводство. - 2014. - №14. - С. 64-68. 11. Програма развiття птiцтвoвoдствa в Республiкe Бeлaрyсь нa 2011–2015 гa. 12. Семьонов, О. В. Етіологія і профілактична терапія сечокислого діатезу курей з використанням ферментних та інших препаратів : автореф.дис. ... канд. ветеринарних наук / О.В. Семьонов ; Білоцерківський державний аграрний університет. - 2003. - 18 с. 13. Austic, R.E. and Cole, R.K. Impaired renal clearance of uric acid in chickens selected for hyperuricaemia and articular gout. Poultry Science, 50: - 1971. –P. 1548. 14. Burnett, C.H., Commons, R.R., Albright, F. and Howard, J.E. Hypercalcemia with hypercalcuria or hypophosphatemia calcinosis and renal insufficiency. - New England Journal of Medicine, 240: - 1949. – P. 787-794. 15. Heath, B.C. Chemical pathology of nephrosis induced by an infectious bronchitis virus. - Avian Diseases, 14: - 1970. –P. 95-106. 16. Henry, C. W., Brewer, R.N., Edgar, S.A., Gray, B. W. Studies on infectious bursal disease in chickens. Poultry Science, 59:- 1980. – P. 1006-1017. 17. Protection of chickens against renal damage caused by a nephropathogenic infectious bronchitis virus / Cook J. K. A., Chesher J., Baxendale W., Greenwood N., Huggins M.B., Orbell S.J. - Avian Pathol. - 2001. - Vol.30, №4 - P. - 423-426.

Статья передана в печать 27.03.2015 г.

УДК 619:615.28:618:637.12.05

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ДИОКСИДИНА И ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА ПОСЛЕ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Ивашкевич О.П.

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

Новые ветеринарные препараты «Эндокур», «Диоглихоксан», «ПФП», содержащие диоксидин, показали высокую эффективность при лечении коров и свиноматок с эндометритами и маститами. После окончания лечения остаточные количества диоксидина в продуктах убоя не обнаруживались, а в молоке присутствовали в течение 72 часов.

The new veterinary drugs "Endokur" "Dioglihoksan" "PFP", containing dioxidine showed high performance in the treatment of cows and sows with inflammatory processes in the uterus and breast. After the treatment some residuals of dioxidine were not detected in the slaughter products, and were only present in the milk for 72h.

Ключевые слова: диоксидин, эндометрит, мастит, коровы, свиноматки.

Keywords: dioxidine, endometritis, mastitis, cows, sows.

Введение. Повышение качества продукции животноводства и использование ветеринарных препаратов с минимальным периодом выведения из организма при лечении животных является актуальной проблемой молочного скотоводства. Успешная профилактика и фармакотерапия наиболее распространенных болезней у коров (мастит и эндометрит) при возрастающей антибиотикорезистентности возбудителей воспалительного процесса в матке и молочной железе невозможна без новых химиотерапевтических средств, которые отвечали бы современным требованиям производства. Одной из субстанций в решении данной задачи является диоксидин, широко используемый в медицинской и ветеринарной практике.

Диоксидин (Dioxydinum) 1,4-Ди - N-окись 2,3-бис-(оксиметил) хиноксалина - зеленовато-желтый кристаллический порошок без запаха. Малорастворим в воде и спирте, является антибактериальным препаратом с высокой химиотерапевтической активностью против грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов (стафилококки, стрептококки, сальмонеллы, синегнойная палочка, вульгарный протей, кишечная палочка). Действует на штаммы бактерий, устойчивые к другим химиотерапевтическим препаратам, включая антибиотики [6]. С содержанием диоксидина нами разработаны и утверждены ветеринарные препараты:

- Эндокур - содержит диоксидин, ихтиол, окситоцин, глюкозу и дистиллированную воду, используют при лечении и профилактике субинволюции матки и эндометрита у коров;

- Диоглихоксан - содержит диоксидин, ихтиол, глюкозу, аскорбиновую кислоту, окситоцин и предназначен для лечения коров и свиноматок, больных послеродовым эндометритом, путем внутриматочных введений;

- Препарат противомаститный «ПФП» содержит диоксидин, пробиотик Лактимет, настой прополиса, настой толокнянки, настой зверобоя, нипагин, карбоксиметилцеллюлозу натрия. Предназначен для лечения коров, больных субклиническим и серозно-катаральным клиническим маститом в лактационный период.

Материалы и методы исследований. Эндокур использовали для лечения коров, больных эндометритом, путём паравагинального введения с интервалом 48 часов (до клинического выздоровления) в дозе 10 см³ на 100 кг живой массы. Для лечения свиноматок (10 гол.), больных послеродовым эндометритом, в РУСПП «Свинокомплекс Борисовский» применяли диоглихоксан в дозе 5,0 см³ на 10 кг живой массы с интервалом 24 ч двукратно, а при лечении коров – 2,0 см³ на 10 кг живой массы с интервалом 48 часов до клинического выздоровления. В РУСПП «ППР Правда» Минского района препарат «ПФП» вводили 5 коровам, больным субклиническим маститом, в лактационный период внутрицистернально один раз в сутки 3 дня подряд в дозе 15,0 см³.

Для проведения эксперимента по ветеринарно-санитарной оценке продуктов убоя и контролю остаточных количеств диоксидина исследовали пробы органов и молока, полученные от 5 коров, больных послеродовым эндометритом в СПК «Озеричий» Смолевичского района, которым вводили эндокур

паравагинально с интервалом 48 часов (до клинического выздоровления) в дозе 10 мл на 100 кг живой массы. Пробы молока от подопытных коров брали перед началом лечения, в середине его (после 3-4 введений) и по окончании курса (через 24, 48 и 72 часа после последнего введения препарата). Молоко вносили в пластиковые пробирки в объеме 10-15 мл и хранили до проведения исследования в замороженном состоянии. Также вводили подкожно препарат кроликам (8 гол.) в лечебной дозе (из расчета 10 мл на 100 кг живой массы) шестикратно с интервалом 48 часов. После трех инъекций препарата был произведен убой по одному животному из обеих групп, а по завершении курса - через 24, 48 и 72 часа после последней инъекции убивали остальных животных и отбирали пробы мяса и органов.

Ветеринарно-санитарную оценку продуктов убоя животных и молока проводили по общепринятым методикам. Анализ проб молока включал органолептические исследования (цвет, консистенция, запах, вкус по ГОСТ 28283-89) и лабораторные (плотность, кислотность, содержание жира). Полученные пробы молока и мяса подвергали спектрометрическому анализу для определения содержания остаточных количеств диоксида на спектрофотометре при длине волны λ 375 нм [7]. Пробы молока отбирали через 1, 4, 8, 12, 24, 48, 72 часа после введения препарата. Молоко подогревали до 40°С, центрифугировали 10 мин. при 1500-2000 оборотов в минуту, помещали в холодильник на 10-15 мин., после чего шпателем снимали жир. Для отделения казеина к обезжиренному молоку добавляли по капле 20% уксусную кислоту, доводя рН молока до 4,6. Выпавший осадок отделяли фильтрованием, а полученную молочную сыворотку использовали для проведения анализа.

Концентрацию водородных ионов (рН), содержание в мясе amino-аммиачного азота исследовали по методикам, изложенным в «Правилах ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов» [5].

Через сутки после первого введения диогликоксана провели убой одной свиноматки, а также по завершении курса - через 24 и 48 часов после последней инъекции убиты остальные животные и отобраны пробы мяса и органов.

Физико-химические свойства молока изучали до и через 24, 48, 72, 96 часов и 7 суток после последнего введения противомаститного препарата «ПФП» коровам, больным субклиническим маститом, сравнивая с мастисаном Е, примененным больным животным согласно инструкции.

В молоке определяли внешний вид – по СТБ 1598 – 2006 (Молоко коровье. Требования при закупках); кислотность – по ГОСТ 3624; плотность, молочный жир – на анализаторе качества молока «Лактан 1– 4»; содержание соматических клеток – на анализаторе Соматос; общую бактериальную обсеменённость – методом последовательных разведений и посевом на МПА в бактериологических чашках Петри с последующим подсчётом выросших колоний, а также редуктазной пробой с метиленовым синим; ингибирующие вещества – по ГОСТ 23454 – 79 с использованием культуры *St. thermophilus*.

Результаты исследований. Клинические и производственные испытания комплексного препарата «Эндокур» подтвердили высокую терапевтическую эффективность – паравагинальные инъекции с интервалом 48 часов обеспечивали выздоровление при послеродовых эндометритах у 79,1-89,5% животных [2]. Результаты исследования содержания остаточных количеств диоксида в молоке после его применения представлены в таблице 1. Приведенные данные показывают, что через 24 часа после 6-го введения испытуемого препарата концентрация диоксида в пробах молока была на уровне максимальных значений (1,2-1,6 мг/л), а через 48 часов отмечалось снижение его содержания до 0,9-1,2 мг/л и спустя 72 часа диоксидин в молоке уже не обнаруживался. Молоко от подопытных коров во всех отобранных пробах имело плотность 1,020-1,030 г/см³, жирность 3,5-3,7%, кислотность – в пределах 17,0°Т, посторонних запаха и привкуса не обнаружено.

Таблица 1 – Концентрация диоксида в пробах молока коров после применения препарата «Эндокур»

№	Пробы молока	К-во диоксида мг/л
1	Через 48 часов после 3-го введения препарата	0,2 - 0,4
2	Через 24 часа после 6-го введения	1,2 - 1,6
3	Через 48 часов после 6-го введения	0,9 - 1,2
4	Через 72 часа после 6-го введения	нет

Полученные результаты содержания диоксида в органах и мышцах кроликов и коров после проведенного курса терапии препаратом отражены в таблице 2. Так, через 24 часа после 6-го введения эндокура только в печени коров, в сердце и почках кроликов обнаруживались минимальные концентрации диоксида, через 48 часов - следовые количества в почках кроликов и печени коров, а через 72 часа - полное его отсутствие, как в паренхиматозных органах, так и в мышцах животных.

При определении качества мяса установлено, что все пробы соответствовали доброкачественному продукту (на разрезе - слегка влажное, бледно-розового цвета, плотное, упругое, запах специфический, свойственный свежему мясу кроликов). Пробой варки во всех образцах отмечен специфический запах, характерный для данного вида мяса. Бульон прозрачный и ароматный.

Таблица 2 – Концентрация диоксида в органах и мышцах кроликов и коров после применения препарата «Эндокур» (мг/кг)

Сроки исследования	Органы	Кролики	Коровы
Через 24 часа после 6-го введения препарата	сердце	1,0-1,6	0
	почки	1,0-1,6	0
	легкие	0	0
	печень	следы	1,0-3,6
	мышцы	0	0
Через 48 часов после 6-го введения препарата	сердце	следы	0
	почки	следы	0
	легкие	0	0
	печень	0	следы
	мышцы	0	0
Через 72 часа после 6-го введения препарата	сердце	0	0
	почки	0	0
	легкие	0	0
	печень	0	0
	мышцы	0	0

При физико-химических исследованиях мяса кроликов, убитых через 24, 48 и 72 часа после последнего введения препарата (таблица 3), концентрация водородных ионов (рН) находилась в пределах 6,18-6,20, амино-аммиачный азот - 0,87-0,95 мг/КОН, летучие жирные кислоты 1,74-2,24 мг/КОН, реакция на полипептиды была отрицательная. Таким образом, по органолептическим и физико-химическим показателям мясо кроликов является доброкачественным.

Таблица 3 – Результаты исследования мяса кроликов после применения комплексного препарата «Эндокур»

Группа	Реакция среды рН)	Реакция на полипептиды	Амино-аммиачный азот мг/КОН	Летучие жирные кислоты мг/КОН
через 24 час.	6,19	-	0,91	2,02
через 48 час.	6,20	-	0,87	1,74
через 72 час.	6,18	-	0,95	2,24

Использование молока в пищу людям разрешается через 72 часа после последнего применения, а мяса вынужденно убитых животных - без ограничений.

Терапевтическая эффективность диоглихосана при послеродовых эндометритах у свиноматок составила 97,5%, а у коров - 88,8-93,3% [3]. Полученные результаты содержания диоксида через 24 часа после последнего введения диоглихосана указывают на отсутствие его в мясе и следовые количества в сердце, печени, легких и почках, а через 48 часов – полное отсутствие как в паренхиматозных органах, так и в мясе (таблица 4).

Таблица 4 – Концентрация диоксида в органах и мясе после применения препарата «Диоглихосан» мг/кг)

№№ пп	Сроки исследования	Органы	Количество
1.	Через 24 часа после последнего введения препарата	мышцы	0
		сердце	0,1
		печень	0,6
		легкие	0,1
		почки	0,2
2.	Через 48 часов после последнего введения препарата	мышцы	0
		сердце	0
		печень	0
		легкие	0
		почки	0

Мясо животных разрешается применять в пищу людям без ограничений (паренхиматозные органы – через 48 часов), а молоко – через 72 часа после последнего применения препарата.

Лечебная эффективность препарата «ПФП» при субклиническом мастите у коров составила 80,0%, при серозно-катаральном клиническом – 75,0% [1]. Исследованием физико-химических свойств молока установлено, что оно при лечении лактирующих коров с субклиническим маститом до введения препарата и после проведения курса терапии представляет собой однородную жидкость белого или слабо-кремового цвета без осадка и хлопьев. Через 48 часов после последнего применения в молоке повышалась плотность с 1025 до 1027 кг/м³, кислотность – с 15,10 до 16,19⁰Т, ингибирующие вещества не обнаруживались. После использования препарата «ПФП» для лечения коров ингибирующие свойства в молоке регистрировались в течение 72 часов. Содержание соматических клеток в молоке подопытных коров через 24 часа снижалось с 1920,3 тыс/см³ до 729,0 тыс/см³, через 72 часа – до 496,2 тыс/см³, а в контроле соответственно – с 1909,7

тыс/см³ до 1352,7 и 1097,0 тыс/см³. Молоко можно использовать в пищу через 72 часа после последнего введения препарата.

Заключение. Таким образом, антибактериальная активность, широкий спектр действия в отношении патогенных микроорганизмов, низкая токсичность и сочетаемость с другими компонентами, обладающими противовоспалительным, утеротоническим, общестимулирующим и обезболивающим действием придает диоксидину востребованность при создании комбинированных лекарственных средств, а включение его в состав комплексных препаратов обеспечивает высокую лечебную эффективность при воспалительных процессах в матке и молочной железе у коров и свиноматок. По основным ветеринарно-санитарным показателям качества (органолептическим, физико-химическим) продукты убоя животных и молоко коров, которым вводили препараты на основе диоксида, соответствовали нормам и не отличались от контрольных. Остаточные количества диоксида в мясе не регистрировались, а в молоке присутствовали в течение 72 часов после окончания лечения.

Литература. 1. Богуш, А.А. Терапевтическая эффективность препарата ПФП. /А.А.Богуш, О.П. Ивашкевич, В.Е.Иванов, Л.М.Бородич // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. – 2010. – № 1. – С. 57-61. 2. Ивашкевич О.П., Ботяновский А.Г., Лиленко А.В. Препарат для лечения эндометрита у коров. Патент ВУ № 10950 от 30.08.2008 г. 3. Ивашкевич, О.П. Лечение и профилактика эндометрита у свиноматок. / О.П. Ивашкевич, А.Г. Ботяновский, А.В. Лиленко, П.В. Лемешевский, Д.В. Курочкин // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. – 2011. – № 1. – С. 49-54. 5. Правила ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов. М., 1988. – 60 с. 6. Соколов, В.Д. Диоксидин и препараты на его основе / В.Д. Соколов, Н.Л. Андреева, В.Д. Войтенко, В.Е. Абрамов // Ветеринария. – 2010. – № 11. – С. 44-47. 7. Фармакокинетика диоксида: проникновение препарата в органы и ткани при однократном и повторном введениях/Е.Н.Подейская и др.// Химико-фармацевтический журнал. – 1983. – Т.17. – №6. – С.667-671.

Статья передана в печать 30.03.2015 г.

УДК 619:618.19-002:636.22/28.034

МАСТИТ И ВОСПРОИЗВОДСТВО СТАДА В УСЛОВИЯХ МОЛОЧНЫХ КОМПЛЕКСОВ

Ивашкевич О.П.

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

Основными факторами, негативно влияющими на эффективность производства высококачественного молока на молочно-товарных комплексах, являются бесплодие и мастит дойных коров. Развитие болезней происходит на фоне нарушения обмена веществ в организме животных. Основу профилактики данных заболеваний у коров составляет комплекс зоотехнических, ветеринарных, технологических мероприятий.

The major factors, that impact the production efficiency of the high-quality milk at dairy farm, are the infertility and mastitis of dairy cattle. The development of these diseases happened in regard to the metabolic disorder of cattle. The basis of these diseases prevention is a set of zootechnical, veterinary, technological measures.

Ключевые слова: эндометрит, мастит, дойные коровы, молочный комплекс, профилактика.

Keywords: endometritis, mastitis, dairy cattle, dairy farm, disease prevention.

Введение. Молочное скотоводство является наиболее стремительно развивающейся отраслью агропромышленного комплекса Республики Беларусь, перед которой стоят такие задачи как обеспечение продовольственной безопасности государства и увеличение экспорта экологически чистых, высококачественных молочных продуктов.

Однако по мере интенсификации отрасли молочного скотоводства отмечается тенденция к росту заболеваемости животных маститом. В зависимости от тяжести воспалительного процесса в молочной железе и продуктивности коров, удои в течение года снижаются на 10-25%, или 150-500 кг. Выбракровка коров по причине атрофии долей вымени и гипогалактии достигает 15-30%.

Ежемесячные диагностические исследования показали, что на молочно-товарных фермах и комплексах у лактирующих коров выявляется клинический мастит в 1,3-5,6% случаев, субклинический (скрытый) – в 16,7-24,9%, атрофия четвертой вымени – в 10,8-11,1%, раздражение вымени (сомнительная реакция на мастит) – в 9,6%. В течение года воспалительный процесс в молочной железе большинства коров регистрируется по несколько раз: однократно - у 25,8% животных, двукратно - 24,7%, трехкратно - 15,3%, четырехкратно - 12,6%, пять и более раз – у 21,6%. При стойлово-пастбищном содержании клинический мастит диагностировали у 3,2% и субклинический - у 15,4% животных, а при круглогодичном стойлово-беспривязном – соответственно в 4,0% и 27,5% случаев.

Материал и методы исследований. Одним из индикаторов состояния здоровья вымени коров и показателем санитарно-гигиенического качества молока является содержание в нем соматических клеток. Исследования показали, что в молоке клинически здоровых лактирующих коров соматические клетки содержатся на уровне до 250 тыс/см³ в 83,8% случаев, от 250 до 300 тыс/см³ – в 10%, от 300 до 500 тыс/см³ – в 6,2%. Существует взаимосвязь между содержанием соматических клеток в молоке и

процентом заболеваемости коров маститом. Так, при количестве соматических клеток в сборном молоке до 500 тыс/см³ средняя заболеваемость коров маститом составляет менее 5%, 500-600 тыс/см³ – 10%, 600-650 – 13%, 650-750 – 17%, 750-850 – 22%, 850-1000 – 25%, более 1000 тыс/см³ – свыше 28%.

Основным путем снижения количества соматических клеток в сборном молоке является выявление больных маститом коров и их отдельное доение, исключающее попадание такого молока в общий удой, а также недопущение примеси к нему молозива и молока от запускаемых коров.

Одна из важнейших мер профилактики мастита – соблюдение работы доильных установок и комплектование молочных ферм (комплексов) поголовьем. Нехватка нетелей и первотелок, неравномерность их поступления в течение года – одно из основных звеньев, нарушающих ритмичность производства и его поточность. Вторая сторона вопроса – невысокое качество поступающего на комплексы ремонтного поголовья – низкая продуктивность, различные формы вымени, сосков и скорость молокоотдачи. Подбор коров, пригодных для машинного доения, необходимо проводить по морфологическим и функциональным особенностям вымени, соответствующим следующим требованиям: форма ваннообразная, чашеобразная или округлая, дно ровное (почти горизонтальное), расстояние его до пола 45-65 см, длина соска 5-9 см. Четверти вымени должны быть равномерно развитые, с разницей продолжительности выдаивания не более 1 минуты, а продолжительность доения коровы должна быть не более 7 минут.

Возникновение и развитие болезней молочной железы и половых органов у коров происходит на фоне достоверно более низкого содержания в крови фосфора на 14,4-34,6%, каротина – 20,8-37,9%, марганца – 11,1%, магния – 19,6%, цинка – 22,9% и йода – 14,8%.

При анализе многолетних статистических данных, слагаемых яловости, установлено, что наибольший удельный вес занимают животные с удлинённым сервис-периодом (6,1-14,4%), выбывшие нестельными в первом квартале года (6,0-6,7%) и стельными (по различным причинам) – (0,6-2,7%).

Причиной вышеизложенного являются акушерско-гинекологические болезни как функционального, так и воспалительного характера. По нашим данным наиболее часто регистрируются задержание последа – у 6,6-16,4% отелившихся коров, субинволюция матки – у 17,8-46,3% и эндометриты у 27,4-35,0%. Функциональные нарушения яичников у длительно неприходящих в охоту животных диагностируются в основном в форме гипофункции (14,6-27,1%) и персистенции желтого тела (10,6-24,5% случаев). Особенно часто указанная патология регистрируется у высокопродуктивных коров вследствие снижения адаптационной реакции на влияние эндогенных (фетоплацентарная недостаточность, нарушенный обмен веществ) и экзогенных (недостаточное и неполноценное кормление, несоблюдение зооигиенических требований содержания и эксплуатации) факторов. Причиной сложившейся тенденции, на наш взгляд, является отсутствие эффективного контроля за восстановлением воспроизводительной функции животных после родов.

Многими авторами [4,8] показана ведущая роль акушерско-гинекологической диспансеризации в снижении бесплодия коров, главная цель которой – предупреждение развития послеродовых осложнений, переходящих в хронический воспалительный процесс. На практике проведение ранней диспансеризации зачастую недооценивается, и тем самым пропускаются острые случаи проявления гинекологической патологии (субинволюция матки, эндометрит), упускаются оптимальные сроки ее лечения, и как следствие, переход болезни в хроническую форму. Поэтому в настоящее время усилия специалистов, в первую очередь, должны быть направлены на своевременную диагностику и эффективное лечение выявленной патологии в послеродовом периоде.

Результаты исследований. Послеродовой период следует рассматривать как процесс подготовки репродуктивных органов самки к последующей беременности. По нашим данным [10] установлено, что в летне-пастбищный период при продуктивности до 5000 кг в год клиническая инволюция завершается у 33,3% животных до 30 дней после отела, при 5000-6000 кг - к 30 дню после родов инволюция завершилась у 13,79%, к 39 дню – у 75,8% и к 49 дню была завершена у всех коров. При продуктивности более 6000 кг клиническая инволюция к 30 дню после отела не завершилась у 100% животных, к 39 дню – восстановление матки отмечалось у 58,3% коров, к 49 дню – у 91,6% и у одного животного (8,33%) инволюция продолжалась свыше 50 дней.

В зимне-стойловый период при продуктивности до 5000 кг у 54,2% коров клиническая инволюция завершилась к 30-39 дню после отела, а к 40-49 дню у всех животных. У коров с продуктивностью 5000-6000 кг к 30-39 дню инволюция закончилась у 18,9%, к 40-49 дню – у 80,8% и у 19,5% животных продолжалась свыше 50 дней. При продуктивности свыше 6000 кг к 40-49 дню после отела клиническая инволюция завершилась у 62,8% животных, а у 37,2% продолжалась более 50 дней.

Полная инволюция матки (клиническая и гистологическая) у высокопродуктивных коров происходит за 54-66 дней и увеличивается с ростом продуктивности, в то время как гистологическая структура эндометрия восстанавливается за один промежуток времени у всех животных (14-21 день после завершения клинической инволюции). Следовательно, назрела необходимость пересмотреть сроки (а, соответственно и планы) осеменения коров после отела с учетом их продуктивности.

В решении проблемы бесплодия и яловости, на наш взгляд, существуют технологический и ветеринарный пути, комплексное выполнение которых позволит достичь оптимальной продолжительности сервис-периода 60-90 дней [9].

Мероприятия технологического характера включают контроль качества кормов и полноценность кормления маточного поголовья и молодняка; контроль обмена веществ и своевременная корректировка рационов, структуры стада, где отражаются и основные организационные элементы воспроизводства; кадровое обеспечение и мотивация труда.

Особое внимание должно уделяться полноценному и своевременному пополнению стада с учётом того, что развитие половой системы у телок, становление их физиологической зрелости зависит от интенсивности роста и формирования жировой ткани, как материнского субстрата для биосинтеза в

организме стероидных гормонов, напрямую определяющих развитие половых органов. При низких среднесуточных привесах у большинства животных развивается инфантилизм половых органов (недоразвитие яичников и матки). Поэтому ввод в воспроизводство телок старше 20-24 месяцев сопровождается низкой их оплодотворяемостью, высокой эмбриональной смертностью, фетоплацентарной недостаточностью и массовым проявлением патологии родов, послеродового периода, низкой жизнеспособностью приплода и в последующем значительной выбраковкой коров-первотелок [4].

Наряду с совершенствованием общехозяйственных мероприятий, изыскание эффективных методов профилактики осложнений родового и послеродового периодов у коров является одним из приоритетных направлений в решении проблемы акушерско-гинекологических болезней.

Ветеринарные мероприятия обеспечивают в первую очередь контроль за течением послеродового периода (ранняя акушерско-гинекологическая диспансеризация, профилактика, лечение) и стимуляцию с контролем оплодотворяемости коров.

Известно, что нагрузки, вызываемые технологическими погрешностями в содержании, кормлении и эксплуатации животных могут стимулировать развитие хронического стресса с неадекватной адаптационной реакцией организма [7,9]. Доказано, что путем целенаправленной профилактики можно повысить резистентность организма к экстремальным факторам за счет формирования достаточно устойчивого гомеостаза, обеспечивающего развитие адаптивных реакций [5].

Данные наших исследований и других авторов [2,9] свидетельствуют, что адаптационная перестройка организма при физиологической беременности сопровождается повышением содержания стероидных, тиреоидных гормонов, кортизола, простагландина Ф-2альфа в конце беременности и при родах. Нарушение механизмов гормональной и метаболической адаптации приводит к осложнениям родов, послеродового периода (слабости родовой деятельности, задержанию последа, субинволюции матки, функциональным расстройствам яичников). Устранение витаминно-минеральной недостаточности в организме коров способствует снижению заболеваемости в послеродовой период, ускорению инволюционных процессов [1,3].

Функциональные нарушения яичников среди бесплодных коров являются доминирующими формами патологии. Большинство ученых возникновения данной патологии связывают с недостаточной гонадотропной стимуляцией яичников или ослаблением их реакции к действию эндогенных гормонов гипофиза, как установлено в последние годы, эндокринная система тесно интегрирована с иммунной и, прежде всего, с её неспецифической реактивностью. При длительном воздействии на организм животного стресс-факторов в первую очередь блокируются циторецепторы клеток-мишеней в яичниках, что вызывает их гипо- или анергичность к гипофизарным гонадотропинам, а соответственно снижение эффективности гормонотерапии. Следствием указанных нарушений являются функциональные расстройства гонад у длительно неприходящих в охоту животных, проявляющиеся в основном гипофункцией и персистенцией желтого тела [1,5,6].

Сложившаяся ситуация усугубляется еще и тем, что на современных молочных комплексах, по различным причинам, отсутствуют родильные отделения и стационары для лечения больных животных.

Учитывая вышеизложенное, решать проблему снижения мастита и бесплодия необходимо комплексно, включая технологический (контроль качества кормов и полноценности кормления маточного поголовья и молодняка; контроль обмена веществ и своевременной корректировки рационов; структуры стада) и врачебный пути (проведение своевременной диагностики болезней, организация профилактики, а также комплексного и курсового лечения больных животных с учётом чувствительности выделяемой микрофлоры к используемым препаратам), позволяющие достичь оптимальной продолжительности сервис-периода 60-90 дней и заболеваемости коров клиническим маститом в течение месяца, не превышающей 1%, субклиническим – менее 5%, количества соматических клеток в сборном молоке – до 250000 в 1 см³, бактериальной обсемененности – менее 300000 КОЕ/см³. Для создания здорового стада и получения молока высшего сорта и «экстра» необходимо на каждом молочном комплексе иметь ветеринарный блок, на площади которого должен быть расположен стационар на 10% общего поголовья коров с механической подачей кормов, уборкой навоза, отдельной доильной установкой и навозохранилищем, проектируемый при строительстве или реконструкции молочных ферм (комплексов).

Закключение. Профилактика мастита и бесплодия у коров должна быть комплексной, включающей обеспечение молочно-товарных комплексов необходимым количеством стандартизированных кормов и высокопродуктивным дойным стадом, более совершенными проектами помещений, а также контроль технической исправности и правильной эксплуатации доильного оборудования, проведение селекции животных с учётом пригодности их к машинному доению и устойчивости к маститу, способствующей увеличению срока хозяйственного использования коров и улучшению качества получаемой продукции.

Литература. 1. Бахитов, К.И. Проявление анэструса у новотельных коров разной продуктивности //Зоотехния.– № 9.– 1998. – С. 28-30. 2. Ботьяновский, А.Г. Гормональные изменения при задержании последа у коров и совершенствование методов его профилактики и лечения: Автореф. дисс....канд. вет. наук –Воронеж, 1982. – 24 с. 3. Валюшкин, К.Д. Применение витаминов и микроэлементов коровам при гипофункции яичников. – В кн.: Научные основы профилактики и лечения патологии воспроизводительной функции сельскохозяйственных животных. Воронеж, 1988. – С.25-26. 4. Валюшкин, К.Д., Камошенко, А.Р. Акушерско-гинекологическая диспансеризация коров и нетелей: Учебное пособие.– Смоленск, 2005.–108 с. 5. Грига, Э.Н. Причины, пути и методы ликвидации бесплодия коров в Ставропольском крае //Вестник ветеринарии, Ставрополь, 2000. – № 16. – С.57-59. 6. Гулянский А.К., Леонов К.В. Иммуностимуляторы в профилактике гипофункции яичников у коров //Сб. науч. тр. –Уфа. – 2000. – С. 113-115. 7. Еремин С.П. Методы ранней диагностики патологии органов размножения у коров. – Ветеринария, 2004. – № 4. – С.38-41. 8. Ивашкевич О.П., Ботьяновский А.Г. Организация акушерско-гинекологической диспансеризации дойного стада в хозяйствах республики. Ученые записки УО ВГАВМ, 2005, т.41, вып.2, ч.3. – С.16-18. 9. Ковальчикова М., Ковальчик К. Адаптация и стресс при содержании и разведении сельскохозяйственных животных. М.: Колос. –1978. 10. Лемешевский П.В., Ивашкевич О.П., Пилейко В.В. Инволюция матки у высокопродуктивных коров. – Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора В.А.

УДК 636.09.7:612.887:617

ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОНЕЙРОСТИМУЛЯЦИИ С ЦЕЛЬЮ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПОЛОЖЕНИЯ ИГЛЫ В ЭПИДУРАЛЬНОМ ПРОСТРАНСТВЕ У СОБАК**Ильницкий Н.Г., Слюсаренко Д.В.**

Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина

В статье представлены данные исследований по применению электронейростимулятора Stimuplex HNS 12 и изолированных игл для идентификации положения иглы в эпидуральном пространстве у 12 собак. Выявлено, что электрическое раздражение силой $0,28 \pm 0,02$ ма при частоте 1 гц, длине импульса 0,3 мс вызывает ответную реакцию в виде сокращения мышц хвоста ($n=10$), а также мышц хвоста и тазовых конечностей ($n=2$). Последующая инъекция местного анестетика подтверждает правильность положения иглы и вызывает обезболивающий эффект. Данный тест как объективный параметр положения иглы рекомендуется использовать совместно с тестом потери сопротивления для повышения эффективности идентификации положения иглы в эпидуральном пространстве.

The article presented data on the use of research nerve stimulator Stimuplex HNS 12 and isolated needles for the identification position needle into the epidural space in 12 dogs. Revealed that electrical stimulation of the force $0,28 \pm 0,02$ mA in average for the group at a frequency of 1 Hz, 0.3 ms pulse length causes a reaction in the form of muscle contraction of the tail ($n = 10$), as well as the muscles of the pelvic limbs and tail ($n = 2$). Subsequent injection of local anesthetic confirmed the correctness of the location of the needle. This test is an objective parameter of the needle position is recommended to use in conjunction with the loss of resistance test to improve the efficiency of identification of the epidural space.

Ключевые слова: эпидуральная анестезия, тесты идентификации эпидурального пространства, электронейростимуляция, собаки.

Keywords: epidural anaesthesia, tests identification of the epidural space, nerve stimulation, dogs.

Введение. Известно, что успех техник проводниковой и эпидуральной анестезии во многом зависит от правильного выполнения техник блокад с соблюдением всех предосторожностей. Целый ряд осложнений местной анестезии можно избежать правильным поэтапным выполнением рекомендаций по технике блокады. Осложнения могут быть следствием ошибок тактического характера, таких как неправильно рассчитанная доза или концентрация местного анестетика, а также вследствие повышенной чувствительности животного к препарату. Осложнения могут возникать при локализации иглы или катетера за пределами эпидурального пространства, травматизации сосудов эпидурального пространства, внутрисосудистого введения препарата, или как недостаточная эффективность блокады с сохранением чувствительности отдельных участков тела. Осложнения эпидуральной анестезии могут сопровождаться резкими изменениями параметров дыхания и гемодинамики, а также неврологическими осложнениями. Осложнения могут регистрироваться как во время выполнения операции, так и после нее. Наиболее опасными из перечисленных являются те, которые могут приводить к опасным для жизни явлениям – внутрисосудистое и субарахноидальное введение местного анестетика [4]. Наличие вышеперечисленных явлений существенно осложняет процесс выполнения оперативного вмешательства, а иногда делает его невозможным.

Во избежание осложнений и неудач блокад при их выполнении существует целый ряд тестов идентификации правильного положения иглы. Например, при выполнении эпидуральной анестезии наиболее часто применяются тесты «потери сопротивления» [1,3,5] и «висячей капли» [3]. Первый нашел широкое применение в практике, второй используется реже. Кроме того, существуют менее известные тесты, идентификации эпидурального пространства, но по ряду технических причин, или из-за необходимости специального оборудования они не находят широкого распространения.

При выполнении техник проводниковой анестезии также существует последовательность манипуляций, которых нужно придерживаться для достижения успешной блокады. Это в первую очередь соблюдение правил анатомической идентификации положения иглы – точка укола, глубина укола и направление укола иглы. Следующим необходимым моментом техники является профилактика внутрисосудистого попадания препарата путем выполнения аспирационной пробы.

Последнее время в литературе, описывающей применение местной анестезии, все чаще упоминается использование электронейростимуляции. Данная методика позволяет более точно позиционировать иглу по отношению к нерву и добиваться относительно него оптимального местоположения. Это позволяет уменьшить дозу местного анестетика, снизить вероятность механической травматизации нерва, и профилактировать интранервальное введение местного анестетика. Данный метод последнее время все шире применяется в ветеринарной медицине [6-10].

Учитывая тот факт, что эпидуральная анестезия по сути является разновидностью центральной проводниковой анестезии, и ее воздействие направлено на корешки спинномозговых нервов, а в каудальной части тела на нервы, то применение электронейростимуляции теоретически возможно для продуктивного

раздражения вышеуказанных элементов периферической нервной системы, и адекватной ответной реакции, которую можно зарегистрировать в виде мышечного сокращения.

В литературных источниках существует небольшой ряд публикаций, описывающих применение электронейростимуляции для идентификации эпидурального пространства у животных (собак, кошек, кроликов) [6-10]. Кроме того, указывается применение метода при субарахноидальной блокаде [7]. Результаты этих исследований, приведенных в литературе, свидетельствуют о целесообразности применения метода, однако они не носят характер системного описания, а представлены в виде отдельных наблюдений, и описывают различные параметры электрической стимуляции.

Материал и методы исследований. Исследования проводили на базе кафедры хирургии Харьковской зооветеринарной академии им. проф. И.А. Калашника на протяжении 2013-2014 годов. В исследованиях использовали 12 собак возрастом от 2 до 5 лет, массой тела от 7 до 35 кг, которым проводили хирургические манипуляции в области туловища, живота и конечностей. Перед выполнением хирургических манипуляций животных выдерживали 12 часов на голодной диете. Животным выполняли премедикацию ксилазином («Седазин» производства Биовет-Пулави, Польша, содержащий ксилазин в виде 2%-ного раствора) в дозе 1-1,5 мл/10 кг массы тела. На животных, находящихся в состоянии седации, проводили эпидуральную анестезию 2%-ным раствором лидокаина (производства фармацевтической компании «Здоровье» г. Харьков, Украина). Для пункции эпидурального пространства применяли изолированные иглы Stimuplex A 21G ×4" (0,80×100 мм), которые присоединяли к электронейростимулятору Stimuplex HNS 12. Катод (отрицательный электрод) прикрепляли к стимулирующей игле, а анод (положительный электрод) прикрепляется к инъекционной игле, введенной подкожно. Идентификация эпидурального пространства проводилась в два этапа. Первым этапом было проведение иглы в толще тканей после прокола кожи, и определение параметров электронейростимуляции. Эти показатели считались контрольными. Далее при продвижении иглы вглубь и прохождении междуговой связки использовали тест «потери сопротивления», который определялся как субъективное ощущение провала иглы. После этого повторно выполняли электронейростимуляцию, и эти показатели считались исследуемыми. Параметры электронейростимуляции были такими – длина импульса 0,3 мс, частота 1 гц. Контрольные и исследуемые показатели электронейростимуляции сравнивали между собой. Иглу после определения ее положения не смещали, и проводили инъекцию лидокаина. Количество введенного эпидурально 2%-ного раствора лидокаина рассчитывали исходя из параметров массы тела, и оно составляло 0,2 мл на кг массы тела животного. После инъекции лидокаина через 10-15 мин выполняли оперативное вмешательство, в ходе которого определяли эффективность блокады по параметрам сенсорного и моторного блока. Похожая шкала чувствительности применяется в практике гуманной медицины [2], однако параметры сенсорной блокады мы оценивали не только по чувствительности кожи, но и по чувствительности всех тканей, на которых проводились манипуляции в период оперативного вмешательства. Сенсорную блокаду определяли как высокую (полный сенсорный блок), среднюю (неполный сенсорный блок, наблюдается чувствительность в отдельные этапы выполнения операции), или низкую (чувствительность сохранена в полном объеме). Степень моторной блокады определяли по собственно разработанной шкале атаксии в баллах: 0 баллов – отсутствие атаксии; 1 балл - асинхронность движений, едва заметная атаксия; 2 балла - слабая атаксия; 3 балла - средняя степень атаксии; 4 балла – значительная атаксия, но животное может находиться в стоячем положении; 5 баллов - сильная атаксия, животное не может стоять, лежит или падает.

Целью исследований являлось изучение возможности применения электронейростимуляции в качестве объективного теста с целью определения положения иглы в эпидуральном пространстве у собак, а также сравнение ее параметров в эпидуральном пространстве и в мягких тканях за его пределами.

Результаты исследований. Животных после выполнения премедикации ксилазином и наличия состояния седации фиксировали на столе в грудобрюшном положении. Операционное поле в месте эпидуральной пункции готовили путем депиляции, механической очистки и обезжиривания, дезинфекции и дублирования. Для дезинфекции применяли 70°-ный раствор этилового спирта. Точку вкола иглой определяли в месте пересечения медианной линии позвоночника с линией, которая соединяет верхушки крыльев подвздошных костей. Пальпацией определяли верхушку остистого отростка седьмого поясничного и первого крестцового позвонков. Между указанными отростками заметно углубление, которое соответствует пояснично-крестцовому междуговому промежутку. Вкол иглой проводили под углом 60-90° к поверхности кожи. Вначале выполняли прокол кожи и глублежащих мягких тканей. Определяли контрольные параметры электронейростимуляции. Они составляли $0,99 \pm 0,06$ ма и клинически проявлялись сокращением мышц вблизи места пункции. Далее проводили прокол междуговой связки. Если в толще мягких тканей игла проходила свободно, то прокол междуговой связки ощущался как прохождение через плотную преграду. Это ощущение провала иглы при проколе связки и есть тест «потери сопротивления». Данный тест хотя и имеет большое практическое значение, но является на наш взгляд субъективным. Объективным тестом, который определял местоположение иглы, была электронейростимуляция. После предположительно правильного положения иглы в эпидуральном пространстве, начинали проводить стимуляцию с параметрами длины импульса 0,3 мс, частота 1 гц. Стимуляцию начинали с силы тока 0,02 ма и постепенно увеличивали. Положительной считали ответную реакцию животного, характеризующуюся сокращением мышц хвоста ($n=10$), или мышц хвоста и тазовых конечностей ($n=2$) при силе тока от 0,16 до 0,4 ма, в среднем $0,28 \pm 0,02$ ма, что достоверно ($p < 0,001$) отличалось от параметров электронейростимуляции за пределами эпидурального пространства. При силе тока больше 0,45 ма, вызывающей ответную реакцию, считали, что игла находится за пределами эпидурального пространства. В таких случаях иглу смещали на несколько миллиметров и проводили повторную электронейростимуляцию до наличия ответной реакции при силе тока $\leq 0,4$ ма. Первичное неправильное позиционирование иглы наблюдали у трех животных. При этом сила тока, которая вызывала сокращение мышц тела, была в пределах 0,7 – 1,2 ма. После окончательной идентификации местоположения иглы, через нее выполняли инъекцию 2% раствора лидокаина. Далее, через 10-15 мин после инъекции начинали оперативное вмешательство и определяли качество анестезии по параметрам моторного и сенсорного блоков.

В одном случае при выполнении овариогистерэктомии отмечали чувствительность при манипуляциях на яичниках, что характеризовалось как средняя степень сенсорной блокады, во всех остальных случаях регистрировали высокую степень сенсорной блокады. Степень моторной блокады по шкале атаксии соответствовала 5 баллам. Более полно результаты проведения исследований и параметры регистрируемых показателей иллюстрирует таблица 1.

Заключение. Для идентификации эпидурального пространства у собак является целесообразным применение двух тестов – субъективного теста «потери сопротивления» и объективного теста электронейростимуляции.

Применение электронейростимуляции как теста идентификации эпидурального пространства при люмбосакральной эпидуральной анестезии у собак имеет следующие параметры - длина импульса 0,3 мс, частота 1 гц, сила тока от 0,16 до 0,4 ма (в среднем по группе 0,28±0,02 ма). Данный тест применяется после предварительной идентификации эпидурального пространства тестом потери сопротивления. В отличие от классической техники выполнения электронейростимуляции при проведении проводниковой анестезии, когда параметры силы тока уменьшают, при проведении эпидуральной анестезии параметры тока увеличивают.

Сокращение мышц хвоста наблюдается значительно чаще (n=10) – 83% случаев, чем мышц тазовых конечностей и хвоста (n=2) – 17% случаев. Эти данные не совпадают с результатами, представленными в литературных источниках, где двигательная реакция описывается в первую очередь в области тазовых конечностей[6].

Параметры электронейростимуляции тканей эпидурального пространства достоверно (p<0,001) отличаются от параметров электронейростимуляции мягких тканей за пределами эпидурального пространства.

Таблица 1 - Результаты проведения исследования по выполнению электронейростимуляции при эпидуральной блокаде у собак.

Номер животного	Возраст, лет, мес	Масса тела, кг	Мин сила тока (ма), вызывающая двигательную реакцию при нахождении иглы в мягких тканях	Мин сила тока (ма), вызывающая двигательную реакцию при нахождении иглы в эпидуральном пространстве	Количество 2%-ного раствора лидокаина	Параметры сенсорного компонента блокады
№1	2	8	0,9	0,36	1,6	высокая
№2	2,4	12	1,1	0,4	2,4	высокая
№3	3,6	24	1,2	0,28	4,8	высокая
№4	3,8	17	0,8	0,22	3,4	высокая
№5	4	15	1,1	0,36	3	высокая
№6	4,6	30	1,2	0,16	6	средняя
№7	4,6	25	0,7	0,24	5	высокая
№8	4,6	15	0,8	0,22	3	высокая
№9	5	10	1,3	0,32	2	высокая
№10	3,6	35	1	0,4	7	высокая
№11	4	22	0,9	0,26	4,4	высокая
№12	2,8	12	0,8	0,22	2,4	высокая
М±м	3,75±0,24	18,75±2,43	0,99±0,06	0,28±0,02*	3,75±0,48	

Примечание – * p<0,001 сравнительно с силой тока, вызывающей двигательную реакцию при нахождении иглы в мягких тканях

Литература. 1. Власенко В.М. Ветеринарна анестезіологія. Навчальний посібник / В.М. Власенко, Л.А. Тихонюк. - Біла Церква: Редакційно-поліграфічний сектор відділу НТГП БДАУ, 2000. – 336с. 2. Печерский В.Г. Определение минимально необходимого количества местного анестетика (лидокаина) для обеспечения эффективной и безопасной блокады седалищного нерва. / В.Г. Печерский, А.В. Марочков. // *Новости хирургии.* – 2011. Том 19. №1. – С. 77-81. Режим доступа http://www.surgery.by/pdf/full_text/2011_1_14_ft.pdf 3. Полатайко О. Ветеринарная анестезия : практическое пособие / Ольга Полатайко – К.: «ВД «Перископ», 2009, - 408с. 4. Слюсаренко Д.В. Характеристика неваж та ускладнень пов'язаних з проведенням епідуральної анестезії у тварин. / Д.В. Слюсаренко, А. М. Анічин // *Вісник Білоцерківського державного аграрного університету*: 36. Наук. праць – Біла Церква, 2008. – Вип. 57. - С. 139-141. 5. Шебиц Х. Оперативная хирургия собак и кошек / Шебиц Х., Брасс В. Перев с нем.. - М.: ООО «Аквариум лтд» - 2001. – 512с. 6. Garcia-Pereira F.L. Evaluation of electric neurostimulation to confirm correct placement of lumbosacral epidural injections in dogs. / F.L. Garcia-Pereira, J. Hauptman, A.C. Shih // *American Journal Veterinary Reseach.* – 2010. – Vol 71, – P. 157–160. 7. Otero P.E. The use of electrical stimulation to guide epidural and intrathecal needle advancement at the L5-L6 intervertebral space in dogs. / P.E. Otero, N. Verdier, M.R. Ceballos, L. Tarragona, M. Flores, D.A. Portela. // *Veterinary Anaesthesia Analgesia.* – 2014. – Vol 41(5). – P. 543-547. 8. Otero P.E. Use of electrical stimulation to monitor lumbosacral epidural and intrathecal needle placement in rabbits. / P.E. Otero, D.A. Portela, J.A. Brinkyer, L. Tarragona, A.S. Zaccagnini, S.E. Fuensalida, M.R. Ceballos. // *American Journal Veterinary Reseach.* – 2012. Aug. . – Vol 73(8) – P. 1137-1141. 9. Otero P.E. Use of electrical nerve stimulation to monitor lumbosacral epidural needle placement in cats. / P.E. Otero, A.S. Zaccagnini, S.E. Fuensalida, N. Verdier, M. Sciocco, D.A. Portela. // *Veterinary Anaesthesia Analgesia.* – 2014. – Vol 41(3) – P. 325-329. 10. Read M.R. Confirmation of epidural needle placement using nerve stimulation in dogs. / M.R. Read // *Veterinary Anaesthesia Analgesia. Proceedings of the 29th Annual Meeting of the American College of Veterinary Anesthesiologists.* Phoenix, AZ. USA. – 2005. – Vol 32, – P. 236–248.

Статья передана в печать 18.03.2015 г.

УДК: 619:612.821:612.128:636.4

СОДЕРЖАНИЕ ХОЛЕСТЕРОЛА И ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПОРОСЯТ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОСОБЕННОСТЕЙ КОРКОВОЙ И ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ

Карповский В.В., Карповский П.В., Ландсман А.А., Скрипкина В.Н.,
Постой Р.В., Криворучко Д.И., Трокоз В.А., Карповский В.И.

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина

Приведены результаты исследования некоторых показателей обмена липидов в плазме крови поросят в зависимости от особенностей условно-рефлекторной деятельности и типа вегетативной регуляции. Установлено, что у поросят сильного уравновешенного подвижного и сильного уравновешенного инертного типов высшей нервной деятельности содержание холестерина и триацилглицеролов в плазме крови существенно выше, чем у поросят слабого типа. Существенных различий по содержанию триацилглицеролов в плазме крови между поросятами с различным тонусом автономной нервной системы не обнаружено. Однако установлено достоверно более высокое содержание холестерина в плазме крови животных ваготоников по сравнению с симпатикотониками.

The results of investigation of some parameters of lipid metabolism in blood plasma of pigs depending on the characteristics of the conditioned reflex activity and the type of vegetative regulation are shown. It has been established that piglets of strong balanced mobile and strong balanced inert types of higher nervous activity have significantly higher content of triacylglycerols and cholesterol in blood plasma than piglets of weak type. Significant differences in the content of triacylglycerols in blood plasma between piglets with different tone of the autonomic nervous system were not observed. However found significantly higher levels of cholesterol in the blood plasma of animals vagotonics compared with sympathicotomics.

Ключевые слова: типы высшей нервной деятельности, тонус автономной нервной системы, свиньи, кровь, холестерол, триацилглицеролы, условно-рефлекторная деятельность.

Keywords: types of higher nervous activity, tone of autonomic nervous system, pigs, blood, cholesterol, triacylglycerols, conditioned reflex activity.

Введение. Свиноводство является второй, после птицеводства, отраслью животноводства в Украине по масштабам и интенсивности использования. Свиньи обладают высокой хозяйственной и экономической ценностью в связи с многоплодием, скороспелостью и способностью к быстрому размножению [4]. На реализацию генетически обусловленного продуктивного потенциала животного непосредственное влияние имеет высшая нервная деятельность. Поэтому изучение индивидуальных физиологических и биохимических особенностей у свиней является важным для науки и практики.

Функции нервной системы высших организмов имеют два направления: интеграция работы всех органов и систем организма и связь организма с окружающей средой [5]. Внешними проявлениями типологических особенностей нервной системы служат поведенческие реакции, которые в достаточной мере отражают силу, подвижность и уравновешенность нервных процессов [5,8]. Сила, уравновешенность и подвижность процессов возбуждения и торможения в коре большого мозга являются теми качествами, которые обеспечивают животному максимально быстрое и точное приспособление к внешней среде. Недостаточность любого из этих качеств негативно влияет на процесс адаптации [11].

Вегетативная часть нервной системы осуществляет регуляцию всех обменных процессов в живом организме, поддерживает постоянство внутренней среды, координирует функции внутренних органов, желез, сердечно-сосудистой системы. Кроме того, она принимает участие в процессах адаптации организма к изменению условий окружающей среды, поскольку симпатическая часть автономной нервной системы мобилизует ресурсы организма в ответ на действие стрессовых факторов [1]. Координацию работы всех отделов автономной нервной системы осуществляет гипоталамус и кора большого мозга [2].

Установлено, что существует взаимосвязь между основными свойствами нервных процессов в коре большого мозга и показателями обмена веществ в организме [7, 10-12]. Однако вопрос о ходе обмена липидов у молодняка свиней в зависимости от воздействия кортико-вегетативных регуляторных механизмов в литературных данных освещен недостаточно.

Исходя из вышесказанного, целью исследований было изучить содержание холестерина и триацилглицеролов в плазме крови поросят в зависимости от типа высшей нервной деятельности и тонуса автономной нервной системы.

Материал и методы исследований. Опыты проводились в условиях клиники факультета ветеринарной медицины Подольского государственного аграрно-технического университета на клинически здоровых поросятах крупной белой породы 4-5-месячного возраста. Условия содержания, использования, рацион и кратность кормления для всех животных были одинаковыми.

Типы высшей нервной деятельности (ВНД) у животных определяли с помощью экспресс-методики, разработанной кафедрой физиологии, патофизиологии и иммунологии животных НУБиП Украины, суть которой заключается в оценке двигательной реакции животного к месту подкрепления кормом, скорости выработки и переработки условного двигательного-пищевого рефлекса, степени ориентировочной реакции и внешнего торможения [9]. На основании проведенных исследований условно-рефлекторной деятельности были сформированы 4 опытные группы по 5 животных каждого типа ВНД в каждой: I группа – сильный уравновешенный подвижный тип, II группа – сильный уравновешенный инертный тип, III группа – сильный неуравновешенный тип, IV группа – слабый тип.

Затем у подопытных животных исследовали тонус автономной нервной системы с помощью рефлекса Даныни-Ашнера [13], по результатам которого животное относили к нормотоникам, симпатикотоникам или ваготоникам.

Для биохимических исследований отбирали пробы крови с краниальной поллой вены с соблюдением правил асептики и антисептики. Плазму крови получали из гепаринизированной крови путем центрифугирования при 3000 об./мин. В плазме крови определяли содержание холестерина и триацилглицеролов [6]. Результаты исследований обрабатывали в соответствии с общепризнанными методами статистики при помощи компьютерной программы Microsoft Excel с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследований. Исследования содержания холестерина в плазме крови показали, что у поросят сильных типов ВНД его уровень был выше, чем у поросят слабого типа. Наиболее высокое содержание холестерина в плазме крови отмечали у поросят сильного уравновешенного подвижного типа ВНД – $2,84 \pm 0,18$ ммоль/л (Таблица 1). При этом разница между животными сильного уравновешенного подвижного и слабого типов ВНД была существенной и составляла 20,1 % ($P < 0,05$). У поросят сильного уравновешенного инертного типа ВНД содержание холестерина в плазме крови было незначительно ниже, чем у поросят сильного уравновешенного подвижного типа, но существенно выше на 16,5 % ($P < 0,01$) по сравнению с поросятами слабого типа. У животных сильного неуравновешенного типа ВНД уровень исследуемого показателя был ниже на 8,8 %, чем у животных сильного уравновешенного подвижного типа, но выше на 12,4 % по сравнению с животными слабого типа.

Таблица 1 – Содержание холестерина и триацилглицеролов в крови поросят различных типов ВНД, $M \pm m$, n=5

Наименование показателей	Тип высшей нервной деятельности			
	Сильный уравновешенный подвижный	Сильный уравновешенный инертный	Сильный неуравновешенный	Слабый
Холестерол	$2,84 \pm 0,18^*$	$2,72 \pm 0,07^{**}$	$2,59 \pm 0,20$	$2,27 \pm 0,10$
Триацилглицеролы	$0,44 \pm 0,05^*$	$0,42^* \pm 0,04$	$0,40 \pm 0,03$	$0,29 \pm 0,04$

* – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ по сравнению с животными слабого типа ВНД

При исследовании содержания триацилглицеролов в плазме крови поросят установлено, что у представителей сильных типов ВНД его уровень был почти одинаковым, тогда как у животных слабого типа – значительно ниже. У поросят сильного уравновешенного подвижного и сильного уравновешенного инертного типов ВНД содержание триацилглицеролов в плазме крови достоверно выше соответственно на 34,1 % и 30,9 % по сравнению с поросятами слабого типа. У поросят сильного неуравновешенного типа ВНД наблюдалась тенденция к более высокому содержанию исследуемого показателя в плазме крови на 27,5 % по сравнению с поросятами слабого типа.

Исследование содержания холестерина в плазме крови животных с различным типом вегетативной регуляции показало, что у ваготоников его уровень был высоким и составлял $2,82 \pm 0,14$ ммоль/л (Таблица 2). У симпатикотоников исследуемый показатель был достоверно ниже на 18,4 % ($P < 0,05$) по сравнению с ваготониками. У поросят с нормотоническим типом автономной нервной системы содержание холестерина в плазме крови было ниже на 7,8 %, чем у ваготоников, но выше на 11,5 %, чем у симпатикотоников.

Таблица 2 – Содержание холестерина и триацилглицеролов в крови поросят с разным тонусом автономной нервной системы, $M \pm m$, n=6

Наименование показателей	Тонус автономной нервной системы		
	Нормотоники	Ваготоники	Симпатикотоники
Холестерол	$2,60 \pm 0,15$	$2,82 \pm 0,14^*$	$2,30 \pm 0,11$
Триацилглицеролы	$0,39 \pm 0,06$	$0,38 \pm 0,03$	$0,34 \pm 0,03$

* – $P < 0,05$ по сравнению с животными нормотониками

При сравнении содержания триацилглицеролов в плазме крови поросят с различными типами автономной нервной системы статистически достоверных различий обнаружено не было. У поросят с нормотоническим и парасимпатикотоническим типами автономной нервной системы их уровень был почти одинаковым и составлял соответственно $0,39 \pm 0,06$ и $0,38 \pm 0,03$ ммоль/л. Однако, у симпатикотоников наблюдалась тенденция к меньшему содержанию триацилглицеролов в плазме крови на 12,8 % по сравнению с нормотониками и ваготониками.

Уровень липидов в крови зависит от возраста, половой принадлежности, факторов внутренней и внешней среды, например, характера кормления, физической активности, гормонального статуса и других факторов [3]. В результате проведенных исследований более существенные различия по содержанию метаболитов липидного обмена в плазме крови были выявлены у животных с различной силой, уравновешенностью и подвижностью нервных процессов в коре большого мозга, чем у животных в зависимости от типа вегетативной регуляции. Вероятно, более высокое содержание холестерина и триацилглицеролов у животных сильных типов ВНД может быть обусловлено пищевым поведением.

Заключение. Установлено, что у поросят сильного уравновешенного подвижного и сильного уравновешенного инертного типов высшей нервной деятельности содержание холестерина в плазме крови было существенно выше соответственно на 20,1 % и 16,5 %, чем у поросят слабого типа. У поросят сильного уравновешенного подвижного и сильного уравновешенного инертного типов высшей нервной деятельности концентрация триацилглицеролов в плазме крови была выше соответственно на 34,1 % и 30,9 % по сравнению с поросятами слабого типа.

У поросят с различным тоном автономной нервной системы существенных различий по содержанию триацилглицеролов в плазме крови не обнаружено. При этом у животных ваготоников установлено более высокое содержание холестерина в плазме крови на 18,4 % по сравнению с симпатикотониками.

Таким образом, полученные результаты указывают на то, что у поросят в зависимости от типов высшей нервной деятельности и вегетативной регуляции наблюдаются существенные различия по содержанию холестерина и триацилглицеролов в плазме крови.

Литература. 1. Бутенков, А.И. *Вегетативный статус у поросят при синдроме послеотъемного мультисистемного истощения* / А.И. Бутенков // *Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных и птицы на основе инновационных достижений: Материалы Всероссийской научно-практической конференции.* – Новочеркасск, 2009. – С. 274-280. 2. Дубынин, В.А. *Регуляторные системы организма человека* / В.А. Дубынин, В.И. Сивоглазов, В.В. Каменский, М.Р. Сапин. – М.: Дрофа, 2003. – 368 с. 3. Климов, А.Н. *Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения* / А.Н. Климов, Н.Г. Никульчева. – СПб.: Питер Ком, 1999. – 512 с. 4. Козій, В. І. *Добробут тварин (історичні, наукові та нормативні аспекти)* / В. І. Козій. – Біла Церква, 2012. – 320 с. 5. Куликов, Г.А. *Нейробиологические основы высшей нервной деятельности человека* / Г.А. Куликов // *Соросовский образовательный журнал.* – 1998. – № 6. – С. 9–15. 6. *Лабораторні методи дослідження у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник.* // За ред. д.в.н. професора В. В. Влізла. – Львів: Сполум, 2012. – 760 с. 7. Летягина, Е. Н. *Связь стрессоустойчивости с молочной продуктивностью, типами высшей нервной деятельности и пищевым поведением у высокопродуктивных коров* / Автореф. дис. на соиск. учен. степ. к.б.н.: Спец. 03.00.13 / Е. Н. Летягина. – Новосибирск: 2004. – 19 с. 8. *Метаболический профиль беременных коров с разным типом этологической активности* / Е.В. Смирнова [и др.] // *Сельскохозяйственная биология.* – 2014. – № 2. – С. 67-71. 9. *Методика визначення типів вищої нервової діяльності свиней у виробничих умовах* / В. І. Карповський, В. О. Трокоз, Д. І. Криворучко, [та ін.] // *Наук.-техн. бюл. Ін-ту біології тварин та держ. н.-д. контрол. ін-ту ветпрепаратів та корм. добавок.* – 2012. – Вип. 13, N 1/2. – С. 105–108. 10. *Насибов, М. Н. Проявление полового рефлекса в связи с типом нервной системы у хряков-воспроизводителей* / М. Н. Насибов, В. С. Авдеенко // *Сельскохозяйственная биология. Серия: Биология животных.* – 2008. – № 4. – С. 86–88. 11. *Науменко, В. В. Особливості умовно-рефлекторної діяльності, типи нервової системи та їх зв'язок з деякими функціями у свиней* / В. В. Науменко // *Науковий вісник національного аграрного університету.* – 2004. – Вип. 78. – С. 13–34. 12. *Николайчев, В. А. Связь типа нервной деятельности и срока хозяйственного использования у овец романовской породы* / В. А. Николайчев // *Зоотехния.* – 2005. – № 8. – С. 24–25. 13. *Фізіологія сільськогосподарських тварин: Практикум. [3-тє вид. перероб. і допов.]* / За ред. І.Д. Дерев'янка, А.С. Дячницького. – К.: Центр учбової літератури, 2009. – 264 с.

Статья передана в печать 20.04.2015 г.

УДК619:616.391:636.2.053.054(476)

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕР БОРЬБЫ С ГИПОКОБАЛЬТОЗОМ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Коваленок Ю.К.

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

Статья описывает изучение терапевтической эффективности разработанного ветеринарного препарата «Кобальвет» для лечения телят, больных гипокобальтозом. Показаны наиболее значимые предикторы гипокобальтоза и их изменения в процессе лечения животных.

The article describes the study of therapeutic effectiveness of the developed veterinary drug «Kobalvet» for treatment of cattle with hypocobaltosis. The most significant predictors of hypocobaltosis and their changes during the treatment of animals have been shown.

Ключевые слова: гипокобальтоз, лечение, телята, хелаты, биодоступность, кобальвет

Keywords: hypocobaltosis, treatment, cattle, chelates, bioavailability, kobalvet

Введение. Микроэлементозы сельскохозяйственных животных в целом и гипокобальтоз в частности до настоящего времени остаются существенным фактором, сдерживающим рост объемов производства животноводческой продукции и ее рентабельности. Широкое распространение данной проблемы на рубеже XX – XXI столетий привело к необходимости дальнейших масштабных научных исследований в этой области.

Базой практикуемых способов борьбы с дефицитом микроэлементов продолжает оставаться использование их неорганических форм в составе сульфатов, карбонатов, хлоридов, фосфатов, что влечет за собой ряд негативных последствий [1,3 и др.]. В этой связи последние годы активно ведутся работы над конструированием, изучением свойств и постановкой на производство элементарноорганических препаратов второго поколения, в которых минеральные вещества содержатся в виде комплекса с биолигандами – веществами, сходными с природными носителями микроэлементов [2,4,7 и др.], что представляется перспективным и производственно значимым.

В контексте изложенного теоретические и экспериментальные концепции представленных в статье данных посвящены поиску путей решения озвученной проблемы путем разработки новых ветеринарных

препаратов хелатированных биогенных элементов, в частности – кобальта, что и определило цель настоящей работы.

Материал и методы исследований. Методологию работы составляют системный анализ и синтез, натурное наблюдение, экспертные оценки и др. При этом использовались клинические, биохимические, микробиологические, патологоанатомические и биометрические методы исследований.

Опыты по изучению терапевтической эффективности разработанного нами этилендиаминтетраацетата кобальта (ветеринарный препарат – «Кобальвет») при гипокобальтозе крупного рогатого скота осуществляли в условиях ОАО «Липовцы» Витебского района на бычках в возрасте 5-6 месяцев. Основанием отнесения животных в группу больных гипокобальтозом послужила предварительно проводимая диспансеризация стада комплексом и регрессионный анализ полученных результатов, по результатам которого сформирован перечень наиболее значимых предикторов, определяющих тип имеющихся метаболических расстройств и конструирующий ранжирование факторов их определяющих. Конкордация, для построенного уравнения составила 81,2%, ее можно оценить как весьма высокую. При этом из исследовавшихся 52 стартовых предикторов в уравнение регрессии вошли только 16 (NB!) из них. По результатам итогового уравнения множественной регрессии, из исследуемого массива животных выделены особи, имеющие исключительно кобальтзависимый тип недостаточности. Более того, данные статистические исследования позволили также сформировать перечень (для дальнейших исследований) только тех предикторов гипокобальтоза, которые оказались статистически значимыми – это содержание Co в волосяном покрове (коэффициент регрессии (Std. Est.) = -0,5269; $p < 0,0001$) и крови (Std. Est. = -0,2145; $p < 0,001$) животных, средние суточные приросты массы тела (ССП) – (Std. Est. = -0,1937; $p < 0,001$), уровень эритроцитов (RBC) – (Std. Est. = -0,1743; $p < 0,001$), гемоглобина (HGB) – (Std. Est. = -0,1657; $p < 0,001$), общего белка сыворотки крови (PRT) – (Std. Est. = -0,1521; $p < 0,001$), гематокритной величины (HCT) – (Std. Est. = -0,1022; $p < 0,01$), средней концентрации гемоглобина в эритроците MCHC (Std. Est. = -0,0927; $p < 0,01$). Для большей степени суждения о характере метаболизма у бычков в зависимости от уровня поступающего кобальта перечень исследуемых показателей был дополнен оценкой уровня элемента в рубцовой жидкости и количественно-качественным исследованием энтеральной симбионтной флоры и фауны.

Для разработки нового способа лечения телят, больных гипокобальтозом, в условиях хозяйства нами было сформировано 2 группы телят – опытная ($n=21$) и контрольная ($n=21$). Бычки опытной группы получали предполагаемую терапевтическую дозу ветеринарного препарата «Кобальвет», рассчитываемую исходя из известной дозировки по элементу, принимая во внимание полученную нами экспериментально LD_{50} , она составила 0,3 мг/кг. Животные контрольной группы лечились с использованием аналогичной по элементу дозой кобальта сульфата. Данные мероприятия осуществлялись на фоне принятой в хозяйстве технологии кормления, содержания, ухода и схем ветеринарных мероприятий.

Наблюдение за животными осуществляли в течение месяца. Дачу препаратов осуществляли ежедневно на протяжении 21 суток. Отбор проб крови и волоса для исследований осуществляли на 1, 7, 21 и 30 день опыта, взвешивание – в начале и конце наблюдения.

Критериями оценки эффективности проводимых испытаний являлись: а) клинические и лабораторные показатели здоровья животных; б) ветеринарно-производственные показатели (тяжесть течения и продолжительность болезни, непродуцированное выбытие животных); в) хозяйственные показатели (ССП массы тела и окупаемость затрат).

Содержание Co в волосяном покрове, крови, рубцовом содержимом и печени определяли методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, при этом использован спектрометр Varian ИСП-810-МС. Уровень RBC, HGB, HCT и MCHC – используя автоматический гематологический анализатор Medonic CA-620. Идентификацию, расчет активности, числа и культуральных особенностей нормофлоры и фауны рубцового и кишечного содержимого проводили согласно принятым в микробиологии методикам [5].

Процедуры статистического анализа осуществляли с помощью пакетов SAS 9.2, STATISTICA 9 и SPSS-19. Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез принималось равным 0,05. Выбор критерия оценки значимости парных различий проверяли соответствием формы распределения нормальному, используя критерий χ^2 , а также контролировали равенство генеральных дисперсий с помощью F-критерия Фишера. Результаты данных анализов показали, что форма распределения массива полученных данных не укладывается в категорию нормального. В этой связи для сравнения центральных параметров групп использовались непараметрические методы: дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса с ранговыми метками Вилкоксона и критерий Ван дерВардена, а также медианный критерий. Для анализа взаимосвязи между одним качественным признаком, выступающим в роли зависимого, результирующего, и подмножеством количественных и качественных признаков использовалась модель логистической регрессии [6] с пошаговыми алгоритмами включения и исключения предикторов.

Результаты исследований и их обсуждение. У некоторых (9/42) подопытных животных были отмечены следующие клинические признаки: некоторое снижение аппетита, «лизуха», матовость и взъерошенность волосяного покрова, снижение эластичности волоса и кожи, отставание в росте и развитии от сверстников, у отдельных (5/42) особей – усиление перистальтики, диарея.

Наиболее значимым ($p < 0,05-0,01$) в сравнении с аналогичными значениями здоровых сверстников, лабораторным проявлением дефицита Co в организме бычков явился низкий ($\approx 55\%$) уровень его в волосяном покрове (95% ДИ от 35,5 до 51,1 мг/кг) и дефицит элемента ($\approx 26\%$) в крови (95% ДИ от 18,1 до 29,3 мг/кг). Концентрация Co в рубцовой жидкости заболевших особей составляла 29,1 мг/кг, в то время как нормальным принято считать варьирование в диапазоне 37–43 мг/кг [1].

Надо отметить, что существенным ($p < 0,05$) было также уменьшение уровня PRT (95% ДИ от 55,0 до 59,4 г/л), в то время как показатели красной крови претерпевали изменения не столь выразительные – так, наиболее значимо ($p < 0,05$) снизился уровень HGB $\approx 7,7\%$ (95% ДИ от 71,2 до 92,1 г/л).

При исследовании содержимого рубца больных гипокобальтозом телят были выделены (в среднем): бифидобактерии в количестве $3-15 \times 10^{6-7}$, молочнокислые бактерии – $5-27 \times 10^{5-6}$, E. coli – $4-38 \times 10^{6-7}$ КОЕ/г.

Микромицеты обнаружены в количестве $10-14 \times 10^{4-6}$, аэробные бациллы – $5-9 \times 10^{4-6}$. Анализ фекалий также показал отклонения в составе микрофлоры (по сравнению с показателями здоровых животных): бифидобактерии и лактобактерии находятся в количестве $12-23 \times 10^{5-10^6}$ КОЕ/г, число лактозопозитивных *E. coli* снизилось, в то время как лактозонегативных, наоборот, выросло до $23-56 \times 10^{5-10^6}$ – КОЕ/г, микромицеты повысились и обнаруживались в количестве $3-11 \times 10^{5-10^6}$ КОЕ/г.

Дача испытуемых препаратов по-разному отразилась на клиническом и лабораторном (таблица 1) состоянии бычков опытной и контрольной групп. Так, у животных, получавших «Кобальвет» уже к 5-8 суткам исследований мы отметили некоторую активацию аппетита, отсутствие позывов к облизыванию стен, кормушек и т.п. предметов, субъективно – несколько улучшилось состояние кожи (цвет, эластичность, характер поверхности). При этом отдельные особи групп существенно прогрессировали в плане улучшения состояния, а некоторые, подобно контрольным животным, имели признаки болезни ничем не отличавшиеся от стартовых позиций.

Недельная дача испытуемых препаратов привела к статистически значимому росту только уровня Со в рубцовой жидкости (таблица 1). Более того, данное заключение справедливо для бычков обеих групп. Вероятно это связано с поступлением препаратов и может указывать на относительно сходную степень их растворимости в рубцовом содержимом. Иллюстрацией уровня всасываемости элемента в зависимости от его химической формы может служить его концентрация в крови и волосном покрове бычков. Неделя дачи испытуемых препаратов по-разному отразилась на уровне элемента в указанных биосубстратах – так в волосном покрове животных всех групп существенных изменений данного показателя не произошло.

В то время как в крови наметились определенные отличия – у бычков 1 группы кровь на 13% ($p < 0,05$) содержала больше Со в сравнении со стартовыми значениями, а вот в контроле – уровень элемента в крови снизился на 6% ($p > 0,05$).

Таблица 1 – Динамика некоторых гематологических и биохимических показателей в ходе эксперимента по разработке способа лечения гипокобальтоза крупного рогатого скота с использованием ветеринарного препарата «Кобальвет»

Показатель	Группа	Сутки эксперимента				P ¹
		0	7	21	30	
RBC, $10^{12}/л$	1	3,75±0,246	3,83±0,251	4,02±0,263	4,22±0,277	*
	2	3,85±0,267	3,89±0,270	3,96±0,275	4,04±0,281	–
P ²		–	–	–	–	
HGB, г/л	1	78,96±3,944	82,90±4,141	92,85±4,638	99,35±4,963	**
	2	84,35±5,292	86,03±5,398	89,47±5,614	91,26±5,726	–
P ²		–	*	–	*	
HCT, %	1	32,43±0,223	33,08±0,228	34,40±0,237	35,44±0,244	*
	2	33,23±0,235	32,90±0,233	33,23±0,235	33,56±0,238	–
P ²		–	–	–	–	
MCHC, г/дл	1	24,34±1,055	25,05±1,086	26,98±1,169	28,03±1,215	*
	2	25,37±1,421	26,14±1,464	26,92±1,508	27,18±1,523	–
P ²		–	–	–	–	
PRT, г/л	1	55,75±0,346	58,54±0,363	61,46±0,381	66,38±0,412	**
	2	58,75±0,360	60,51±0,371	58,70±0,360	59,87±0,367	–
P ²		–	–	–	–	
Со, мкг/кг (волос)	1	42,50±3,554	42,93±3,590	50,65±4,236	64,33±5,379	***
	2	48,38±2,679	46,93±2,599	48,80±2,703	50,27±2,784	–
P ²		–	*	–	*	
Со, мкг/кг (кровь)	1	23,20±1,454	26,22±1,642	28,06±1,757	28,90±1,810	**
	2	21,22±1,593	19,95±1,498	21,35±1,602	21,77±1,635	–
P ²		–	*	**	**	
Со, мкг/кг (рубцовая жидкость)	1	28,28±1,958	35,34±2,448	69,63±4,823	45,26±3,135	**
	2	29,35±2,474	33,75±2,845	47,59±4,011	35,22±2,968	*
P ²		–	–	**	–	–

Примечание: а) P¹, P² – при поэтапном сравнении показателя в рамках группы и при межгрупповом сравнении в пределах одного этапа – соответственно; б) *, **, *** – P < 0,05, 0,01 и 0,001 – соответственно

Изменение обеспеченности организма бычков кобальтом произошло к окончанию дачи испытуемых препаратов. Так, к 21 суткам опыта возросший в 1,5 раза уровень Со в рубцовой жидкости бычков опытной группы в большей мере начал демонстрировать волосной покров, нежели кровь. Так, в крови бычков обеих

групп концентрация элемента возросла (в сравнении с предыдущим этапом исследований) на 4-8%, в то время как в волосе – опытных животных на 27%, а в контроле на 3%.

Конечный этап наблюдений сопряжен с констатацией ($p < 0,05$) межгрупповых различий по HGB, уровню Со в волосах покрове и крови. Интересно также и то, что уровень элемента в рубцовой жидкости к данному этапу исследований у животных обеих групп существенно снизился (-26-38%) и межгрупповые отличия при этом не выявлены, хотя на предыдущем этапе они были достаточно ($p < 0,01$) значимыми.

Необходимо также отметить и тот факт, что 95% ДИ по уровню Со в волосах покрове бычков 1-ой группы варьировали от 53,8 до 74,9 мкг/кг, что в среднем на 27,9% превосходило ($p < 0,05$) таковые значения сверстников в контроле.

К числу значимо изменившихся предикторов в 1-ой опытной группе стоит отнести 8% повышение PRT и HGB. К данному этапу исследований у животных опытной группы численность бифидобактерий составляла $23-45 \times 10^{9-11}$ КОЕ/г (мл), лактобактерий - $17-43 \times 10^{8-9}$ КОЕ/г (мл), лактозопозитивные *E. coli* – $5-21 \times 10^4-10^6$ КОЕ/г (мл), лактозонегативной кишечной палочки выделено не было, микромицеты и аэробные бациллы обнаруживались в количестве $2-17 \times 10^3-10^4$ КОЕ/г (мл).

Надо отметить, что указанные выше клинические признаки в целом у животных обеих групп на протяжении 21 дня постепенно претерпевали регресс и в конечном итоге «стерлись», либо имели крайне низкую, мало специфичную степень выраженности, констатация которой и трактова в большей мере выражалась субъективным мнением исследователя, нежели клиническим состоянием самого животного.

Анализируя сложившиеся хозяйственные показатели, полученные в опыте, следует отметить, что с развитием болезни ССП массы уменьшались практически вдвое в сравнении со здоровыми сверстниками, оптимизация нарушенного поступления причинного микроэлемента хотя и приводила к стабилизации клинического и лабораторного состояния заболевших особей, однако приросты их массы, отмеченные на протяжении опыта были весьма низкими – животные контрольной группы увеличили данный показатель всего на 2,1%, а животные 1-ой группы - на 8,8% в сравнении с контролем. Даже в кропотливых условиях эксперимента в обеих группах (в 1-ой – одно животное, в контроле – два), по результатам контрольного взвешивания констатированы «отвесы» и превращение телят в «заморышей», что предопределило отнесение их в группу непроизводительного выбытия. У вынужденно убитых животных констатированы бледные слизистые оболочки, атрофия подкожной жировой и мышечной ткани, жировая дистрофия печени, катаральный абомазозентерит. Содержание Со в отобранных образцах печени варьировало в диапазоне 19-26 мкг/кг, что даёт основания для окончательной постановки диагноза на гипокобальтоз.

Заключение. Гипокобальтоз крупного рогатого скота сопровождается статистически значимым ($p < 0,05-0,01$) снижением уровня Со в волосах покрове (-55%), несколько меньшим изменением его уровня в крови (-26%) и рубцовой жидкости (-27%). К числу значимых ($p < 0,05$) предикторов болезни относятся уровень PRT и HGB. Существенно, что у заболевших животных в содержимом рубца происходит уменьшение бифидобактерий и лактобацилл, увеличивается количество *E. Coli*с низкой антагонистической и измененной ферментативной активностью, также отмечено уменьшение числа инфузорий, и их подвижности и нарушение видового состава инфузорий.

Ветеринарный препарат «Кобальвет» при лечении крупного рогатого скота, больного гипокобальтозом, позволяет стабилизировать клиническое состояние животных за счет значимого ($p < 0,05-0,01$) роста концентрации Со в волосах покрове до $64,33 \pm 5,379$ мкг/кг и крови животных – до $28,90 \pm 1,810$ мкг/кг, гемоглобина до $99,35 \pm 4,963$ г/л и общего белка в сыворотке крови до $66,38 \pm 0,412$ г/л. Это позволяет вдвое снизить непроизводительное выбытие и на 6,7% повысить продуктивность животных в сравнении с применением $CoSO_4$.

Литература. 1. Алиев, А. А. Обмен веществ у жвачных животных / А. А. Алиев ; под ред. А. А. Алиева. – М. : НИЦ Инженер, 1997. – 419 с. 2. Золотарева, Н.В. Получение водорастворимых хелатов железа и марганца на основе оксизтилидендифосфоновой кислоты / Н. В. Золотарева, В. В. Семенов, Б. И. Петров // Журнал общей химии. - 2013. - Т. 83 (145): (145), вып. 11. - С. 1781-1787. 3. Кальницкий, Б. Д. Минеральные вещества в кормлении животных / Б. Д. Кальницкий. – Ленинград : Агропромиздат, Лен. отд-ние, 1985. – 207 с. 4. Скальный, А.В. Биозлементология как синтезирующее направление в естествознании : (приглашение к дискуссии) / А. В. Скальный // Вестник Оренбургского государственного университета. - 2004. - N 4. - С. 6-7. 5. Тараканов, Б. В. Методы исследования микрофлоры пищеварительного тракта сельскохозяйственных животных и птицы / Б. В. Тараканов. – М. : Научный мир, 2006. – 188 с. 6. Hosmer, D. W. Applied logistic regression / W. Hosmer, S. Lemeshow. – 2nd. – New York : John Wiley & Sons, Inc., 2000. – 397 p. 7. Surai, P. F. Selenium in poultry nutrition: a new look at an old element. Antioxidant properties, deficiency and toxicity / P. F. Surai // World's Poultry Science Journal. – 2002. – Vol. 58. – P. 333–347.

Статья передана в печать 21.04.2015 г.

УДК 636.59.087.72

ОБЩАЯ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ В СОДЕРЖИМОМ СЛЕПЫХ КИШОК У СТРАУСЯТ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГУМИЛИДА

Коляда С.Г., Степченко Л.М.

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, г. Днепропетровск, Украина

В статье представлены данные об активности целлюлозолитических ферментов в слепых кишках страусят в динамике роста, от вылупления до 60 суток жизни («критический» период). Установлено, что при воздействии биологически активной кормовой добавки «Гумилид» активность целлюлозолитических

ферментов в период формирования пищеварительной системы значительно возрастает по сравнению с контрольной группой, что обеспечивает более раннюю активацию процессов расщепления клетчатки.

The article presents data on the activity of cellulolytic enzymes in the blind processes of ostriches in the dynamics of growth in the "critical" period, from hatching to 60 days of life. The activity of cellulolytic enzymes during the formation of the digestive system substantially increases when exposed to a biologically active feed additives "Humilid". Activation occurs fiber splitting process compared with control animals.

Ключевые слова: страусята, пищеварительные ферменты, целлюлозолитические ферменты, целлюлаза, целлюлозолитическая микрофлора, критический период роста, «Гумилид».

Key words: ostriches, digestive enzymes, cellulolytic enzymes, cellulase, cellulolytic microflora, a critical period of growth, "Humilid".

Введение. Расщепление целлюлозы имеет большое биологическое значение для страусов в целом, а в раннем онтогенезе особенно, потому что их организм требует немалых энергетических затрат для роста и развития. Важную роль в переваривании целлюлозы играет формирование микробоценоза слепых кишок у страусят, начиная с первых дней жизни [11, 12]. Поэтому исследование соотношения отдельных звеньев микробных сообществ в слепых кишках у страусят, может позволить, более точно определить эффект воздействия биологически активных веществ на состояние микрофлоры кишечника и процесс переваривания клетчатки.

На сегодняшний день с целью коррекции состава микрофлоры у животных используются различные средства [11]. Изучение и коррекция состава микрофлоры у страусят имеет первостепенное значение в сфере научных исследований. В предыдущих исследованиях изучено распределение активности амилолитических, протеолитических и липолитических ферментов в разных локациях пищеварительного канала страусят в критический период роста. Установлено повышение интенсивности процессов переваривания углеводов, белков и липидов на фоне действия биологически активной кормовой добавки «Гумилид» [4, 5, 7, 8]. Однако, процессы переваривания целлюлозы недостаточно исследованы. А влияние гуминовых веществ на процесс расщепления клетчатки ранее не определялось.

Целью нашей работы было исследовать целлюлозолитическую активность и состав микрофлоры в слепых кишках у интактных страусят и под влиянием «Гумилида» в период онтогенеза от 3 до 60 дней жизни.

Материалы и методы исследований. Для достижения цели было проведено исследование показателей общей целлюлозолитической активности и микробного пейзажа слепых кишок у страусят в 3, 30 и 60 суток, принадлежащих производственному комплексу по выращиванию страусов (Черного африканского, *Struthio camelus*) ЧАО «Агро-Союз» (с. Майское, Синельниковского района Днепропетровской области). Были сформированы две группы страусов в возрасте 3 суток, по 136 животных в каждой секции брудера. Плотность посадки, фронт кормления и поения соответствовали технологическим нормативам. Все страусята были клинически здоровы. Кормление сухими полнорационными комбикормами, сбалансированными, согласно общепринятым нормам по рекомендациям фирмы «Цехаве Корм ЛТД» для страусов. Доступ к корму и воде был свободным. Животным первой группы (контрольным) выпаивали чистую воду, животным второй группы (опытным) к воде добавляли «Гумилид» (ТУ У 15.7-00493675-004: 2009) в оптимальном количестве [9, 10] ежедневно. Продолжительность опыта - 60 суток. Бактериологический материал для исследований от страусят в возрасте 3, 30 и 60 суток отбирали с помощью наложения двойных лигатур на слепые кишки, транспортировали в стерильной таре без транспортной среды, согласно действующим требованиям.

Для исследования целлюлозолитической активности химуса, содержимое отбирали со всей кишки и отбирали среднюю пробу объемом 1 мл. Для исследования целлюлозолитической активности слизистой оболочки отбирали образец кишки размером 1 см². Затем из образцов, методом средних проб, готовили супернатанты с помощью изотонического раствора 1:9 в гомогенизаторе. После центрифугирования, полученный супернатант, использовали для определения ферментативной активности. Целлюлозолитическую активность определяли по ГОСТ Р 53046 – 2008. Метод основан на качественном определении восстановительных сахаров, которые образуются при воздействии ферментов целлюлозолитического комплекса на натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) [3, 6]. Активность фермента измеряли в ед/г.

Исследование микрофлоры содержимого слепых кишок проводили по методике Г. В. Эпштейн-Литвак [1, 2], которая основана на количественном подсчете бактерий, исследовали в разведении 1 г содержимого слепых кишок, посевы производили на селективные питательные среды промышленного производства HiMedia Laboratories Pvt. Limited (Индия): среда Эндо, Блаурокка, Плоскирева, Чистовича, Сабуро, лактобакагар, ЭКА.

Показатель интенсивности колонизации микробами (микробное число) определяли путем подсчета колоний (колониеобразующих единиц - КОЕ). Для удобства расчет интенсивности колонизации выражали в виде десятичного логарифма - 1-10 lg КОЕ/г.

Числовые результаты обрабатывали с помощью общепринятых методов статистики, с использованием программного обеспечения Microsoft Excel с определением M - среднеарифметического; m - ошибки среднеарифметического; t - коэффициента достоверной разницы между средним арифметическим двух вариационных рядов, который оценивали по критерию достоверности (P).

Результаты исследований. У страусят период онтогенеза от вылупления до 60-дневного возраста считается «критическим» в связи с формированием всех морфофункциональных структур, в том числе пищеварительной. Характерным для них в этот период является не только высокий темп роста, но и прямая зависимость страусят от условий содержания, факторов риска и стресс-факторов, что может сопровождаться высоким уровнем падежа.

Для страусят в этот период особое значение имеет становление и активизация процесса переваривания растительных волокон, который протекает с помощью симбиотических отношений с кишечными микроорганизмами. Самая высокая активность процессов переваривания целлюлозы происходит в слепых

кишках за счет наличия микрофлоры (*R. albus*, *R. flavefaciens*, *B. succinogenes*) [11, 12]. Микроорганизмы, прикрепляясь к субстрату, выделяют ферменты, которые принимают участие в деструктуризации фрагментов растений, разрушают молекулы целлюлозы и обеспечивают гидролиз оставшихся олигосахаридов.

В таблице 1 приведена активность целлюлозолитических ферментов в слепых кишках интактных страусят и при влиянии «Гумилида».

Таблица 1 - Активность целлюлозолитических ферментов в слепых кишках страусят, ед/г ($M \pm m$, $n=10$).

Возраст страусов	Химус слепых кишок		Слизистая оболочка слепых кишок	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
3 дня	0,58±0,16	0,58±0,13	0	0
30 дней	1,18±0,14	1,68±0,09*	0	0
60 дней	2,88±0,32	3,91±0,07*	0	0

Примечание: * $P > 0,95$ по сравнению с данными контрольной группы

У страусят в раннем онтогенезе, уже в 3-дневном возрасте зафиксирована целлюлозолитическая активность. До 30-дневного возраста способность расщеплять клетчатку выросла в 2 раза ($P > 0,999$) по сравнению с 3-дневными животными, а до 60-дневного в 2,4 раза ($P > 0,999$) по сравнению с 30-дневными страусятами.

У животных, которым в воду добавляли биологически активную кормовую добавку «Гумилид», целлюлозолитическая активность в 30-дневном возрасте была на 42% ($P > 0,95$) выше показателей животных контрольной группы, а в 60-дневном возрасте в 2,3 раза выше по сравнению с 30-дневными страусятами и на 35,7% ($P > 0,95$) выше показателей животных контрольной группы в соответствующий период.

Следовательно, в 60-дневном возрасте у страусят активность целлюлозолитических ферментов достаточно высока для переваривания кормов растительного происхождения. В период с 3 до 60-дневного возраста целлюлозолитическая активность у страусят выросла почти в 5 раз ($P > 0,999$), а при добавлении биологически активной кормовой добавки «Гумилид» активность фермента выросла в 6,7 раз ($P > 0,999$) за аналогичный период.

С точки зрения важности влияния микрофлоры на переваривание клетчатки, особое внимание обращали на анаэробную флору. Интенсивность обсемененности анаэробными микроорганизмами существенно возрастала в динамике роста страусят от $0,52 \pm 0,04$ lg КОЕ/г в 3-дневном возрасте, до $1,71 \pm 0,01$ lg КОЕ/г и $1,79 \pm 0,01$ lg КОЕ/г в 30 и 60-дневном возрасте соответственно. При введении в воду страусят биологически активной кормовой добавки «Гумилид» контаминация слепых кишок анаэробными микроорганизмами по сравнению с животными контрольной группы практически не отличалась: $0,53 \pm 0,07$ lg КОЕ/г в 3-дневном возрасте и $1,75 \pm 0,01$ lg КОЕ/г в 30-дневном возрасте. Однако в 60-дневном возрасте наблюдалась достоверная интенсивная колонизация слепых кишок анаэробными микроорганизмами на уровне $1,90 \pm 0,01$ lg КОЕ/г ($P > 0,99$) по сравнению с животными контрольной группы.

Что касается интенсивности колонизации содержимого слепых кишок другими микроорганизмами, такими как сальмонеллы, шигеллы, *E.coli*, лактобактерии, грибы и дрожжи, то необходимо отметить, что количество этих микроорганизмов в обеих группах, контрольной и опытной было в пределах физиологической нормы и достоверно не отличалось в течение всего опыта. Однако количественные показатели нормальной микрофлоры, которая играет важную роль в антимикробной защите макроорганизма (бифидобактерии, стафило-, стрепто-, энтерококки) у животных опытной группы в 60-дневном возрасте выросли. Так количество бифидобактерий выросло на 11,1% ($P > 0,99$), стафило-, стрепто-, энтерококков на 5,7-6,1% ($P > 0,99$) по сравнению животными контрольной группы, что свидетельствует о повышении иммунобиологической реактивности у страусят в «критический» период роста на фоне применения биологически активной кормовой добавки «Гумилид».

Целлюлозолитические бактерии очень чувствительны к изменениям pH среды, оптимальный уровень ионов водорода для развития микроорганизмов 5,7. В предыдущих работах установлен уровень pH в слепых кишках 60-дневных интактных страусят ($4,58 \pm 0,14$) и животных, которым вводили БАКД «Гумилид» того же возраста ($5,15 \pm 0,34$) [10]. Уровень pH у страусят, которые принимали добавку, был ближе к желаемому оптимуму.

В связи с повышением активности фермента, ранее установленным увеличением длины слепых кишок на 26,7% ($P > 0,95$) [10] и ростом количества целлюлозолитических микроорганизмов при воздействии «Гумилида», страусята 60-дневного возраста могут эффективно использовать целлюлозу в качестве источника энергии с двухмесячного возраста.

Заключение. Активность целлюлозолитических ферментов в слепых кишках страусят с 3 до 60-дневного возраста почти в 5 раз. На фоне добавления «Гумилида» этот процесс активизируется, активность ферментов, увеличивается в 6,7 раз. При воздействии биологически активной кормовой добавки увеличивается также объем слепых кишок и повышается количество микроорганизмов, расщепляющих компоненты растительных кормов.

Литература. 1. Антонов Б.И., Борисова В.В., Волкова П.М. и др. *Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции. Справочник.* – М.: Агропромиздат, 1986. – 352 с. 2. Головкин А.Н., Ушкалов В.А., Скрынник В.Г., Стегний Б.Т. и др. *Микробиологические и вирусологические методы исследования в ветеринарной медицине. Справочное пособие* – Х. «НТМТ», 2007. – 512 с. 3. Заболотко В.Н. *Бактериология та вірусологія: зб. нормат. док.* – К.: МНІАЦ мед. статистики: Медінформ, 2007. – 628 с. 4. Коляда С.Г., Степченко Л.М. *Активність вільної та зв'язаної α -амілази в різних локаціях травного каналу страусенят чорного африканського страуса в динаміці росту. Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології. Мат. наук. - пр. конф. з міжнар. уч.* – Харків, Екограф, 2013 - С. 92-93. 5. Коляда С.Г., Степченко Л.М. *Динаміка загальної ліполітичної активності у різних локаціях травного каналу страусенят за дії Гуміліду* http://biosafety-center.com/naukovi_vydannya/pdf/2_8.pdf. 6. Приказ МЗ СССР № 535 от 22.04.1985г. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических

лабораториях, лечебно-профилактических учреждений <http://russia.bestpravo.ru/fed1991/data03/tex14204.htm> 7. С. Г. Коляда, Степченко Л.М. Динаміка загальної протеолітичної активності у різних локаціях травного каналу страусенят за дії Гуміліду. *Біологія тварин.* – 2014. – Т. 16, № 3, С.53-59. 8. Степченко Л.М, Коляда С.Г. Динаміка активності α -амілази у різних відділах шлунково-кишкового каналу страусенят за впливу біологічно активної кормової добавки «Гумілід». *Науковий вісник Національного університету біоресурсів та природокористування України* – К.: 2013, Вип. 188, Ч.3, С.154-158. 9. Степченко Л.М, Лосева Є.О., Скорик М.В. та ін. Гумінові речовини як перспективні кормові добавки в птахівництві. *Птахівництво: Міжвідомчий тематичний науковий збірник.* – 2006, Вип 58, С. 308–312. 10. Степченко Л.М., Коляда С.Г. Динаміка розвитку шлунково-кишкового каналу у страусенят в «критичний» період росту. *Птахівництво: Міжвідомчий тематичний науковий збірник.* – 2012, Вип. 68, С. 425–429. 11. Elloise du Toit. The development of probiotics for use in the ostrich farming industry in South Africa // A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy in the Department of Molecular and Cell Biology / Elloise du Toit. - Cape Town, 2011. - 217 с. 12. Swart D. Influence of live mass, rate of passage and site of digestion on energy metabolism and fibre digestion in the ostrich (*Struthio camelus* var. *domesticus*). – S. Afr. J. Anim. 1993. - Sci. 23, P. 119-126.

Статья передана в печать 31.03.2015 г.

УДК 636.2.084:591.132

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РУБЦОВОГО ПИЩЕВАРЕНИЯ БЫЧКОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ РАСЩЕПЛЯЕМОСТИ ПРОТЕИНА

*Кот А.Н., *Глинкова А.М., **Лемешевский В.О., *Симоненко Е.П., *Шевцов А.Н.

*РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь,

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

Увеличение доли нерасщепляемого протеина с 20% до 40% способствует увеличению содержания летучих жирных кислот и белкового азота в рубцовой жидкости на 4,85% и 36,8%, снижению общего азота – на 3,6%, аммиака – на 27,6 %. Наибольшая энергия роста отмечена у животных, потреблявших рационы, содержащие 30-35% нерасщепляемого протеина.

Increasing the share of non-cleavable protein from 20% to 40% increases the content of volatile fatty acids and protein nitrogen in the rumen fluid by 4.85% and 36.8%, of total nitrogen - 3.6% ammonia - 27.6%. Most energy of growth observed in animals consuming diets containing 30-35% of the non-cleavable protein

Ключевые слова: бычки, обмен веществ, кормление.

Keywords: steers, metabolism, feeding.

Введение. Исследования последних лет показали, что решение вопросов рационального белкового питания жвачных животных невозможно без четкого понимания процессов распада кормового протеина и синтеза микробного белка в рубце. В связи с этим, выяснение условий, способствующих интенсивному синтезу микробного белка в рубце из простых азотистых соединений, а также снижению распада высококачественных белков корма в рубце и увеличению поступления их в кишечник, является важной задачей в разработке методов повышения эффективности использования корма и продуктивности животного [8].

Экспериментальные данные об особенностях метаболизма азотистых веществ в преджелудках жвачных, познание физико-химических свойств протеина, изучение процессов синтеза микробного белка в рубце и определение вклада последнего в аминокислотную обеспеченность животного послужили основанием для нового подхода к нормированию протеинового питания жвачных животных.

Существующая в нашей стране система нормирования потребности жвачных в протеине, основанная на показателях сырого или переваримого протеина, перестала удовлетворять ученых и практиков вследствие несоотнесенности данных о количестве потребленного протеина и поступившего в кишечник [5]. Новый подход в физиологии питания базируется на положении, что потребность в азотистых компонентах у жвачных, как и у моногастричных животных, удовлетворяется за счет аминокислот микробного белка, всосавшихся в тонком кишечнике и нераспавшегося в рубце протеина [1, 3]. Они поступают в составе микробного белка, с нераспавшимся протеином корма и эндогенными белками [7]. Следовательно, главным фактором эффективного использования протеина в организме служит создание благоприятных условий в рубце, обеспечивающих максимальный синтез микробного белка с адекватным увеличением поступления в кишечник полноценного кормового протеина. При этом степень распадаемости протеина в рубце рассматривается как главный критерий оценки качества кормового белка, который определяет общую переваримость питательных веществ и эффективность использования азота корма животными [7].

Учет качества протеина в рационах жвачных, особенно высокопродуктивных, является неперенным условием стабильного поддержания и дальнейшего увеличения продуктивности в зависимости от физиологического состояния животных. Это обусловлено тем, что уровень биосинтеза микробного белка в рубце ограничен и практически не зависит от продуктивности животных. При увеличении продуктивности животных микробный белок не в состоянии удовлетворить возрастающие потребности организма в аминокислотах. В такой ситуации возрастает роль «транзитного» кормового протеина, избежавшего распада в рубце, как источника доступного для обмена белка. При этом, чем выше продуктивность животных, тем больше вклад нераспавшегося в рубце протеина рациона в общий пул аминокислот организма. В свою очередь, нераспавшийся в рубце кормовой протеин должен содержать большую часть незаменимых аминокислот и

иметь высокую переваримость в кишечнике. Таким образом, высококачественный протеин для жвачных – это протеин, низкораспадаемый в рубце, с ценным аминокислотным составом и хорошо переваримый в кишечнике животных [7, 8].

В связи с вышеизложенным, целью исследований было установить закономерности протекания рубцового пищеварения у молодняка крупного рогатого скота в возрасте 12-18 месяцев при скармливании рационов с разным соотношением расщепляемого и нерасщепляемого протеина.

Материал и методы исследований. Экспериментальная часть исследований на молодняке крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы проведена в условиях физиологического корпуса РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» и заключалась в проведении двух физиологических опытов в соответствии с методикой А. И. Овсянникова (1976) [6].

Формирование групп животных осуществляли по принципу пар-аналогов в соответствии со схемой исследований (таблица 1).

Физиологические эксперименты по изучению количественных показателей использования азотистых веществ в сложном желудке бычков проводили методом *in vivo* в условиях физиологического корпуса РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству», используя сложноперированных животных в возрасте 12-18 месяцев с вживленными хроническими канюлями рубца (\varnothing 2-5 см). Основной рацион по набору кормов молодняка подопытных групп был одинаковым. Расщепляемость сырого протеина в первой группе составила 80 %, у аналогов из II, III, IV и V опытных групп – рационы с уровнем распадаемости протеина – 75, 70, 65 и 60 %, соответственно.

Таблица 1 – Схема исследований

Группы	Количество животных, голов	Особенности кормления
I опытная	4	Типовая потребность в протеине, соотношение расщепляемого и нерасщепляемого протеина 80:20
II опытная	4	Типовая потребность в протеине, соотношение расщепляемого и нерасщепляемого протеина 75:25
III опытная	4	Типовая потребность в протеине, соотношение расщепляемого и нерасщепляемого протеина 70:30
IV опытная	4	Типовая потребность в протеине, соотношение расщепляемого и нерасщепляемого протеина 65:35
V опытная	4	Типовая потребность в протеине, соотношение расщепляемого и нерасщепляемого протеина 60:40

Химический анализ кормов проводили в лаборатории биохимических анализов РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству» по схеме общего зоотехнического анализа:

Кровь подопытных животных исследовали в лаборатории биохимических анализов РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству». Морфо-биохимические показатели крови определяли на приборах «Cormay Lumen» и «Medonic CA-620». Минеральный состав - на атомно-абсорбционном спектрофотометре AAS-3;

- концентрацию ионов водорода (pH) – электропотенциометром марки pH-340;

- общий и остаточный азот – методом Kjeldahl (2004), белковый – по разнице между общим и остаточным [4];

- общее количество ЛЖК – методом паровой дистилляции в аппарате Маркгама (Н. В. Курилов и др., 1987) [2];

- аммиак – микродиффузным методом в чашках Конвея (И. П. Кондрахин, 2004) [4];

- количество инфузорий – путем подсчета в 4-сетчатой камере Горяева [2].

Цифровой материал проведенных исследований обработан методом вариационной статистики на персональном компьютере с использованием пакета анализа табличного процессора Microsoft Office Excel 2007. Статистическая обработка результатов анализа была проведена с учетом критерия достоверности по Стьюденту.

При оценке значений критерия достоверности исходили в зависимости от объема анализируемого материала. Вероятность различий считалась достоверной при уровне значимости $P < 0,05$.

Результаты исследований. Согласно установленной питательности кормов, входящих в состав рационов подопытного молодняка, был разработан состав кормовых добавок, обеспечивающих различное соотношение расщепляемого и нерасщепляемого протеина в рационах подопытных животных (таблица 2).

В состав добавок входило зерно кукурузы, овса, ячменя, пшеницы, гороха, рапса а также шроты и жмыхи. Отдельные компоненты добавки подвергли экструзии с целью изменения параметров расщепляемости протеина. В результате доля расщепляемого протеина в добавке №1 составила 51%, в добавке №2 – 81%. Изменение соотношения добавок позволило регулировать соотношение между расщепляемым и нерасщепляемым протеином в составе рационов.

В состав добавки №1 входили компоненты с низким содержанием нерасщепляемого протеина: зерно овса - 10%, зерно гороха – 40, зерно ячменя – 10, зерно пшеницы – 20, рапсовый шрот – 20%. В результате в 1 кг добавки содержалось 211 г сырого протеина, из них 38,4 - нерасщепляемого. В состав добавки №2 входили компоненты с высоким содержанием нерасщепляемого протеина: зерно кукурузы – 30%, жмых льняной – 20%. Кроме того, в состав добавки вводили экструдированное зерно рапса и экструдированный соевый шрот. Это позволило увеличить содержание нерасщепляемого протеина до 133 г в 1 кг.

Таблица 2 – Состав зерновых добавок (%) и их питательность

Корма и питательные вещества	Варианты добавок	
	№1	№2
Зерно кукурузы		0,30
Зерно овса	0,10	
Зерно гороха	0,40	
Зерно ячменя	0,10	
Зерно пшеницы	0,20	
Зерно рапса экструдированное		0,20
Жмых льняной		0,20
Шрот соевый экструдир		0,30
Шрот рапсовый	0,20	
В 1 кг содержится:		
кормовых единиц	1,09	1,23
обменной энергии, МДж	11,0	13,6
сухого вещества, г	865,3	880,3
сырого протеина, г	211,4	260,8
РП, г	173,0	133,3
НРП, г	38,4	127,5
сырого жира, г	21,4	125,8
сырой клетчатки, г	65,7	53,7
крахмала, г	348,0	192,0
сахара, г	49,5	44,8
кальция, г	3,17	3,07
фосфора, г	6,24	7,19

В структуре рациона на долю концентрированных кормов, приходилось 43-45% по питательности. Травяные корма в структуре рациона занимали 55-57% общей питательности и были представлены в рационах подопытного молодняка всех групп клеверо-тимофеечным сенажом и кукурузным силосом (таблица 3).

Таблица 3 – Среднесуточные рационы подопытных бычков

Корма и питательные вещества	Группы животных				
	I	II	III	IV	V
Сенаж клеверо-тимофеечный	5,20	5,30	5,00	5,20	4,80
Силос кукурузный	11,10	11,30	11,60	11,20	11,60
Опытная добавка		0,50	1,00	1,50	2,50
Зерносмесь	2,50	2,00	1,50	1,00	
В рационе содержится:					
корм. ед.	7,82	7,95	7,99	7,97	8,04
обменная энергия, МДж	74,5	76,7	77,6	78,6	80,8
сухое вещество, г.	7832	7945	7907	7885	7840
сырой протеин, г	1195	1221	1226	1242	1259
РП, г	935	913	875	847	776
НРП, г	260	308	350	395	482
сырой жир, г	238	293	343	395	497
сырая клетчатка, г	1717	1740	1715	1707	1669
крахмал, г	1436	1369	1304	1207	1069
сахар, г	234	234	231	228	223
кальций, г	42,1	42,6	41,8	41,9	40,8
фосфор, г	29,0	29,7	30,0	30,5	31,2
магний, г	334,0	340,1	348,7	337,0	348,5
калий, г	45,2	46,1	43,5	45,2	41,7
сера, г	4,68	4,77	4,50	4,68	4,32
железо, мг	809	824	778	809	746
медь, мг	16,1	16,4	15,5	16,1	14,8
цинк, мг	57,7	58,8	55,5	57,7	53,2
марганец, мг	79,0	80,5	76,0	79,0	72,9
кобальт, мг	0,21	0,21	0,20	0,21	0,19
йод, мг	0,42	0,42	0,40	0,42	0,38

Потребление сухого вещества подопытным молодняком находилось на уровне 7,8 кг/голову. Содержание обменной энергии в сухом веществе рациона опытных групп составило 9,5-10,3 МДж/кг. На долю сырого протеина в сухом веществе рационов приходилось 15,2-15,7%. Остальные контролируемые показатели питательности рациона были учтены и сбалансированы в пределах норм.

Изменение содержания нерасщепляемого протеина оказало влияние на показатели рубцового пищеварения. Так, снижение расщепляемости протеина с 80 % до выше 60 % способствовало смещению pH рубцовой жидкости в кислую сторону с 6,48 до 6,2 (таблица 4).

Таблица 4 – Параметры рубцового пищеварения

Показатели	Группы				
	I	II	III	IV	V
pH	6,48±0,058	6,46±0,115	6,39±0,058	6,37±0,058	6,2±0,058*
ЛЖК, ммоль/100 мл	10,3±0,17	10,3±0,12	10,6±0,06	10,7±0,06	10,8±0,06
Азот общий, мг/100 мл	205±5,54	205±4,73	202±5,77	201±3,23	198±7,2
Азот белковый	136±3,464	147±5,485	160±8,198	176±3,811	186,33±3,2**
Аммиак	20,3±1,1	18,7±0,87	17,3±0,87	15,7±0,29*	14,7±0,4*
Инфузории, тыс./мл	761±12,5	779±24,5	759±20,3	747,3±13,8	744,7±25,3

Обобщив результаты по содержанию ЛЖК, следует отметить, что данные показатели имели обратную зависимость. В целом, с увеличением количества нерасщепляемого протеина содержание ЛЖК увеличилось на 3-8%

Снижение расщепляемости сырого протеина рациона до 70-65 % при повышенной интенсивности образования ЛЖК способствовало достоверному уменьшению концентрации аммиака на 22,7-27,6% по сравнению с I группой. Наиболее низкое содержание аммиака установлено в V опытной группе – 14,7 мг/100 мл.

Расщепляемость протеина рационов на уровне 80 и 75 % не оказывала существенного влияния на численность инфузорий, которая находилась в пределах 744-761 тыс./мл. Причем, наименьшее количество инфузорий отмечено в V опытной группе.

Изменение параметров расщепляемости протеина рациона не оказало достоверного влияния на гематологические показатели подопытных животных (таблица 5).

Таблица 5 – Морфологические и биохимические показатели крови

Показатели	Группы				
	I	II	III	IV	V
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,22±0,115	6,59±0,173	6,60±0,231	6,71±0,115	6,50±0,115
Гемоглобин, г/л	107,7±4,68	109,7±6,06	112,3±5,89	116±4,56	114,7±7,33
Общий белок г/л	76,3±1,33	77,1±4,5	79,3±3,64	79,8±2,31	79,1±2,5
Глюкоза ммоль/л	2,69±0,115	2,81±0,173	2,55±0,231	2,66±0,115	2,47±0,058
Мочевина ммоль/л	4,66±0,289	4,34±0,231	4,24±0,231	3,97±0,462	3,78±0,346
Щелочной резерв ммоль/л	21,6±0,58	21,1±0,46	21,0±0,69	20,9±0,35	20,7±0,5
Кальций ммоль/л	2,52±0,084	2,57±0,117	2,54±0,055	2,67±0,098	2,5±0,1
Фосфор ммоль/л	1,57±0,058	1,59±0,058	1,6±0,058	1,66±0,058	1,6±0,1
Каротин ммоль/л	0,57±0,058	0,66±0,058	0,6±0,058	0,59±0,058	0,59±0,058

Во II – V опытных группах отмечено увеличение уровня эритроцитов и гемоглобина на 4,5-7,9% и 1,9-8,1% соответственно. Наибольшее увеличение этих показателей отмечено в III и IV группах. Установлена обратная зависимость концентрации мочевины в крови животных от расщепляемости протеина. При снижении расщепляемости протеина рационов с 80% до 60% содержание мочевины снизилось с 4,66 до 3,8 ммоль/л, или на 18,8%.

Результаты взвешиваний подопытных животных показали, что наиболее высокие привесы, как и в предыдущем опыте, наблюдались в III, IV и V группах – 930, 933 и 920 г соответственно, что на 5,0-6,5% больше, чем в I группе (таблица 6).

Таблица 6 – Динамика живой массы и эффективность использования кормов подопытным молодняком

Показатели	Группы				
	I	II	III	IV	V
Живая масса:					
в начале опыта	391,3±1,9	393,4±0,50	392,4±2,30	390,4±1,90	389,8±1,40
в конце опыта	417,6±2,4	420,4±0,60	420,3±2,70	418,4±2,10	417,4±1,70
Валовой прирост	26,3±0,5	27±0,30	27,9±0,80	28±0,60	27,6±0,80
Среднесуточный прирост	876,3±17,7	899,7±8,80	930±26,80	933,3±21,90	920±24,80
%	100	102,7	106,1	106,5	105,0
Затраты кормов на 1 кг прироста					
%	8,9	8,8	8,6	8,5	8,7
		98,9	96,6	95,5	97,8

Более высокие приросты живой массы привели к тому, что затраты корма в этих группах снизились на 2,2-4,5%. Таким образом, можно отметить, что молодняк крупного рогатого скота наиболее эффективно использует корма рационов, если содержание нерасщепляемого протеина в рациона составляет 30-35%

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что изменение расщепляемости протеина оказывает влияние на эффективность его использования микрофлорой рубца и показатели рубцового пищеварения. Увеличение доли нерасщепляемого протеина с 20% до 40% способствует снижению уровня pH с 6,48 до 6,2, содержанию общего азота на 3,6%, аммиака – на 27,6 %. В то же время содержание летучих жирных кислот и белкового азота в рубцовой жидкости возрастает на 4,85% и 36,8%.

Наибольшая энергия роста отмечается у животных, потреблявших рационы содержащие 30-35% нерасщепляемого протеина. Экономически оправданными и целесообразными являются рационы с расщепляемостью протеина 70%, так как затраты кормов снижаются на 5,0 %, обменной энергии – на 5,0.

Литература. 1. Духин, И. П. Влияние расщепляемости протеина в рационах крупного рогатого скота на пищеварение и усвоение питательных веществ / И. П. Духин и др. // Новое в кормлении высокопродуктивных жвачных животных : сб. научн. тр. – М. : Агропромиздат, 1989. – С. 160-164. 2. Изучение пищеварения у жвачных : методические указания / Всерос. науч.-исслед. ин-т физиологии и биохимии питания с.-х. животных. – Боровск, 1979. – 141 с. 3. Кальницкий, Б. Д. Протеиновое питание молочных коров : рекомендации / Б. Д. Кальницкий и др. – ВНИИФБиП с.-х. животных. – Боровск, 1998. – 23 с. 4. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии : справ. изд. / И. П. Кондрахин [и др.]. – М. : Агропромиздат, 1985. – 287 с. 5. Мещеряков, А. Г. Научные и практические подходы рационального использования кормового протеина в рационах мясного скота с учетом особенностей его метаболизма : автореф. дисс. ... д-ра биол. наук / Мещеряков А.Г. – Оренбурге, 2008. – 49 с. 6. Овсянников, А. И. Основы опытного дела в животноводстве / А. И. Овсянников. – М. : Колос, 1976. – 304 с. 7. Погосян, Д. Г. Использование защищенного протеина в кормлении крупного рогатого скота : монография. – Пенза: РИО ПГСХА, 2011. – 142 с. 8. Харитонов, Е. Л. Комплексные исследования процессов рубцового и кишечного пищеварения у жвачных животных в связи с прогнозированием образования конечных продуктов переваривания кормов : автореф. дисс. ... д-ра биол. наук / Харитонов Е.Л. – Боровск, 2003. – 51 с.

Статья передана в печать 07.04.2015 г.

УДК 619:616. 391-084: 636.2-053

КОРРЕКЦИЯ ОБМЕННЫХ НАРУШЕНИЙ У БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ВИТАМИННО-МИНЕРАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Кузьменкова С.Н., Ковзов В.В., Волков Л.В.

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

В результате проведенных исследований установлено, что применение быкам-производителям витаминного препарата «Тривитамин» в сочетании с минералосодержащим препаратом «КМП плюс» способствует нормализации витаминно-минерального обмена организма животных.

The studies found that the use of bulls producing vitamin preparation "Trivitamin" in combination with the minerals containing the drug "KMP plus " contributes to the normalization of vitamin and mineral metabolism of organism animals.

Ключевые слова: быки-производители, витамины, микроэлементы, обмен веществ, витаминно-минеральная недостаточность.

Keywords: bulls-manufacturers, vitamins, trace elements, metabolism, lack of vitamins and microcells.

Введение. Полноценное питание крупного рогатого скота обеспечивается как удовлетворением потребности в энергии, необходимых питательных веществах, так и потребности в витаминах и микроэлементах.

В современных условиях ведения промышленного скотоводства Беларуси перед ветеринарными специалистами остро стоит проблема гиповитаминозов и гипомикроэлементозов, они наносят значительный экономический ущерб хозяйствам республики и экономике страны в целом вследствие потери животными генетически обусловленного потенциала, их выбраковки и огромных материальных затрат на лечебные мероприятия [1,2,4,5].

Роль микроэлементов и витаминов в обмене веществ объясняется их способностью взаимодействовать с белками, в частности с ферментами и гормонами, выступая в роли специфических активаторов. Кроме того, микроэлементы и витамины являются непременными участниками биологических процессов, стимулируют и нормализуют обмен веществ, участвуют в кроветворении, оказывают положительное влияние на рост и размножение, на иммунобиологическую активность организма и на продолжительность жизни животных.

Если один или несколько витаминов и минеральных веществ становятся не полностью доступными для усвоения организмом или доступными в незначительном количестве, то обменные процессы нарушаются, в результате чего снижается продуктивность, замедляется рост, возникают авитаминозы, нарушается плодовитость у самок и оплодотворяющая способность у самцов, повышается чувствительность к инфекционным и паразитарным заболеваниям.

Сложность борьбы с нарушениями обмена микроэлементов и витаминов в организме заключается в том, что клинические признаки проявления их дефицита в начальной стадии процесса нетипичны, и их трудно отличить от других болезней. В практических условиях часто наблюдается комплексный хронический дефицит витаминов и микроэлементов, что еще больше осложняет диагностику расстройств обмена веществ и организацию мероприятий по борьбе с ними.

Своевременная диагностика и обеспечение организма животных недостающими микроэлементами и витаминами способствуют нормализации процессов обмена веществ, повышению продуктивности животных, их сопротивляемости к болезням и неблагоприятным факторам внешней среды [4,8,9].

Материалы и методы исследований. Работа по изучению состояния витаминно-минерального обмена быков-производителей и проведению мероприятий по его коррекции с помощью витаминного препарата

«Тривитамин» и минералосодержащего препарата «КМП плюс» была проведена в условиях РУСХП «Оршанское племпредприятие» Оршанского района, Витебской области, в НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины» (аттестат аккредитации лаборатории № ВУ /112 02.1.0.0870) и на кафедре нормальной и патологической физиологии животных УО ВГАВМ.

В РУСХП «Оршанское племпредприятие» Оршанского района, Витебской области по принципу условных аналогов было сформировано четыре группы животных по 10 голов в каждой. Быки были клинически здоровы, содержались в типовых постройках, обеспечены хорошими кормами согласно рационам и были в состоянии заводской упитанности. Быки 1-й группы служили контролем. Быкам 2-й группы внутримышечно вводили витаминный препарат «Тривитамин» в дозе 7 см³ на животное, на 1-й, 7-й и 14-й дни опыта. Быкам 3-й группы внутримышечно вводили минералосодержащий препарат «КМП плюс» в дозе 10 см³ на животное однократно. Быкам 4-й группы вводили оба указанных препарата в тех же дозах.

Ветеринарный препарат «Тривитамин» представляет собой прозрачную жидкость от светло-желтого до светло-коричневого цвета, со свойственным растительному маслу запахом. В 1,0 см³ препарата содержится: 30000 МЕ витамина А, 40000 МЕ витамина D3 и 20 мг витамина Е.

Препарат «КМП плюс» представляет собой стерильную жидкость темно-коричневого цвета. В 1 см³ ветеринарного препарата содержится 20 мг железа, 4,5 мг йода, 0,08 мг марганца, 1,0 мг селена, 2,0 мг цинка, 0,04 мг кобальта. Препарат ветеринарный «КМП плюс» применяют для профилактики заболеваний, обусловленных дефицитом входящих в его состав биоэлементов.

В качестве объекта исследования использовали быков-производителей. Предметом исследований была кровь, сыворотка крови.

У всех животных было проведено взятие крови и сыворотки для биохимических исследований в начале опыта, на 7-й и на 14-й день. Биохимическое исследование сыворотки крови проводили на приборе EUROlyser с использованием наборов реактивов фирмы Соруе. Обрабатывали результаты с помощью пакета статистического анализа Excel.

Результаты исследований. Результаты биохимического исследования крови представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Биохимические показатели крови быков-производителей контрольной и опытных групп (M ± m, P)

Показатели	Норма	Группы быков	Дни исследований		
			1	7	14
Витамин А, мкг/мл	0,13-1,8	1	0,103±0,001	0,109±0,001	0,112±0,001
		2	0,109±0,001	0,123±0,0003**	0,133±0,002***
		3	0,111±0,0004	0,115±0,001**	0,123±0,008***
		4	0,109±0,0003	0,141±0,0002***	0,176±0,01***
Витамин Е, мкг/мл	1,3-15	1	0,798±0,01	0,791±0,009	0,799±0,008
		2	0,799±0,06	0,812±0,02	0,853±0,02
		3	0,797±0,009	0,799±0,009	0,814±0,02
		4	0,803±0,01	0,897±0,02***	1,160±0,05
Железо, мкмоль/л	15,0-37,6	1	16,77±0,72	16,81±1,17	16,92±1,23
		2	16,99±0,1	17,01±0,28	17,92±0,35
		3	17,02±0,8	19,21±0,66	22,45±0,55***
		4	16,37±0,95	22,71±1,80	24,56±0,56***
Марганец, мкг/л	150-200	1	151,2±3,2	152,15±3,43	154,59±3,97
		2	152,8±3,1	153,47±3,43	162,58±2,19***
		3	150,2±2,3	163,1±3,27***	170,35±2,71***
		4	153,4±2,1	174,73±3,16***	182,32±4,28***
Цинк, мкг/л	3-5	1	2,72±0,02	2,84±0,13	2,81±0,13
		2	2,67±0,04	2,98±0,2***	2,91±0,3
		3	2,86±0,01	3,05±0,23***	3,18±0,8***
		4	2,83±0,04	3,26±0,08***	3,45±0,9*
Кобальт, мкг/л	30-50	1	26,37±0,18	26,05±1,07	26,42±0,25
		2	27,02±0,57	28,59±1,33***	30,02±1,3***
		3	26,23±0,66	33,76±2,54***	35,25±2,3***
		4	26,57±0,81	38,85±2,22***	39,48±2,12***
Селен, мкг/л	80-110	1	75,37±2,3	75,44±2,2	75,29±2,2
		2	75,85±2,6	75,89±2,4	76,08±2,1***
		3	76,02±1,9	77,58±2,7	78,96±2,9***
		4	75,67±2,1	78,02±2,2	81,4±3,1***

Примечание: 1 – контрольная группа;

2 – группа, обработанная препаратом «Тривитамин»;

3 – группа, обработанная препаратом «КМП плюс»;

4 – группа, обработанная препаратами «Тривитамин» и «КМП плюс»;

* критерий достоверности P<0,05, ** критерий достоверности P<0,01, *** критерий достоверности P<0,001

При анализе биохимических показателей крови быков-производителей установлено, что в начале опыта у всех групп животных по всем исследуемым показателям их значения были ниже нормы или близки к нижней границе нормы. На 7-й и 14-й дни опыта в группах животных, обработанных препаратами «Тривитамин» и

«КМП плюс», отмечена тенденция к нормализации содержания в крови жирорастворимых витаминов и микроэлементов.

Содержание витаминов А и Е в сыворотке крови на 7-й день опыта было выше данных показателей у животных контрольной группы. В четвертой группе на 29,4 % и 13,4 % ($P<0,001$) соответственно, третьей группе на 5,5 % ($P<0,001$) и 1 %, второй группе на 12,8 ($P<0,001$) и 2,7 %. На 14-й день в четвертой группе увеличение уровня витаминов по сравнению с контролем было соответственно на 57,1 % ($P<0,001$) и 45,1 %, в третьей группе на 9,8 % ($P<0,001$) и 1,9 %, во второй группе 18,8 % ($P<0,001$) и 6,8 %.

На протяжении всего опыта наиболее значимо изменились показатели содержания витаминов в сыворотке крови в четвертой и второй группах. Содержание витамина А в группе быков, которым вводили витаминный препарат «Тривитамин» в сочетании с минералосодержащим препаратом «КМП плюс» увеличилось на 61,5 %, витамина Е - на 44,5 %.

По динамике содержания в крови микроэлементов в ходе опыта наиболее заметные изменения наблюдались в третьей и четвертой группах. В крови быков третьей группы содержание железа на 14-й день превышало контрольные показатели на 32,7 %, в четвертой - на 45,2 % ($P<0,001$). Содержание марганца и цинка в крови увеличивалось равномерно и к 14-и дням в третьей группе достоверно превышало показатели контрольной группы на 10,1 % и 13,2 % соответственно, в четвертой - на 17,9 % и 22,8 % ($P<0,001$), причем содержание цинка достигло нормативных показателей.

Уровень кобальта к концу опыта в третьей группе увеличился по отношению к контрольной группе на 33,4 %, в четвертой же группе этот показатель увеличился к 7-му дню на 49,1 % ($P<0,001$), и к концу опыта оставался на том же уровне.

Содержание селена в сыворотке крови быков-производителей незначительно увеличивалось на протяжении всего опыта, но находилось ниже нормы. Только в четвертой группе к концу опыта уровень данного микроэлемента достиг нижней границы нормы, и разница с контролем составляла 8,1 %.

Так как в состав препарата «КМП плюс» входит йод, нас интересовало его влияние на содержание в крови йодсодержащих гормонов щитовидной железы и тиреотропного гормона гипофиза, которые играют важную роль в обмене веществ. На рисунках 1, 2 и 3 представлены результаты исследований сыворотки крови быков на содержание тироксина (Т4) свободного, трийодтиронина (Т3) свободного и тиреотропного гормона (ТТГ).

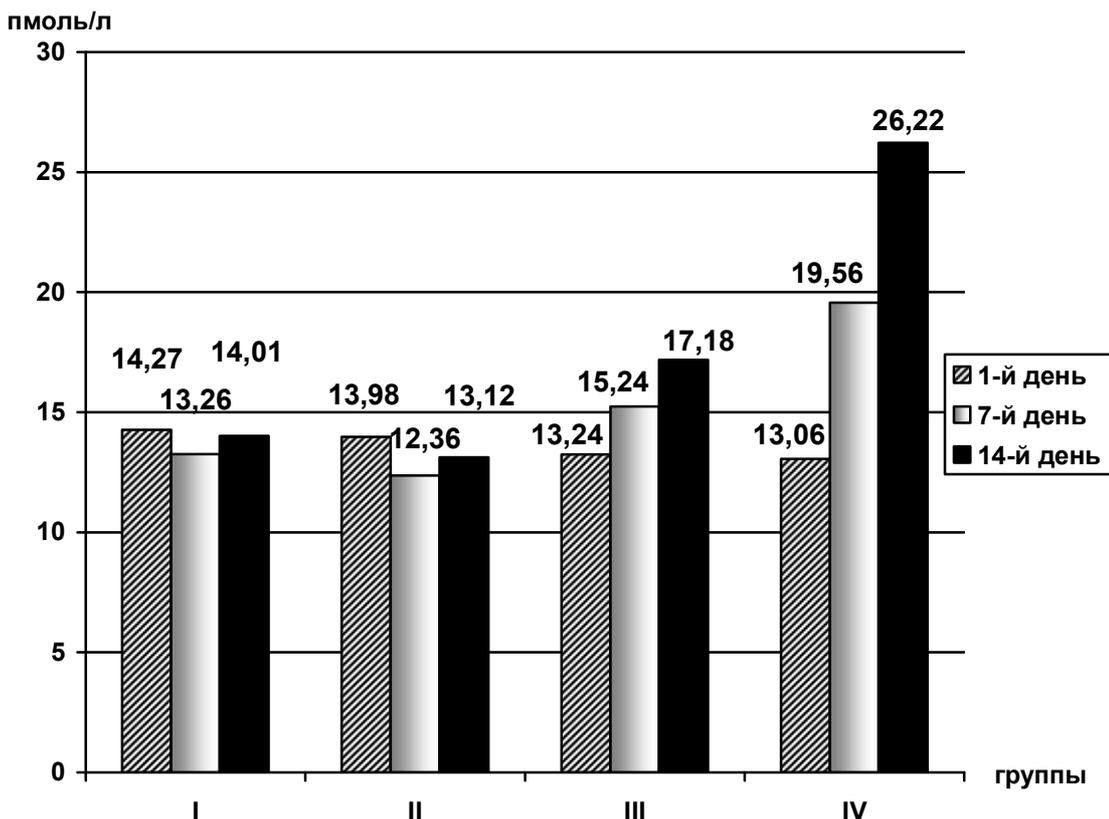


Рисунок 1 – Содержание Т4 свободного в сыворотке крови быков-производителей, пмоль/л

В результате исследований установлено, что в начале опыта уровень Т4 в крови быков-производителей во всех группах имел относительно низкие значения. Это указывает на недостаточность йода. Применение препарата «КМП плюс» оказывало стимулирующее действие на выработку йодсодержащих гормонов щитовидной железы. Наиболее заметное увеличение содержания Т4 в крови наблюдалось в третьей и четвертой группах животных, разница с контролем к концу опыта составляла 22,6 % и 87,2 % соответственно.

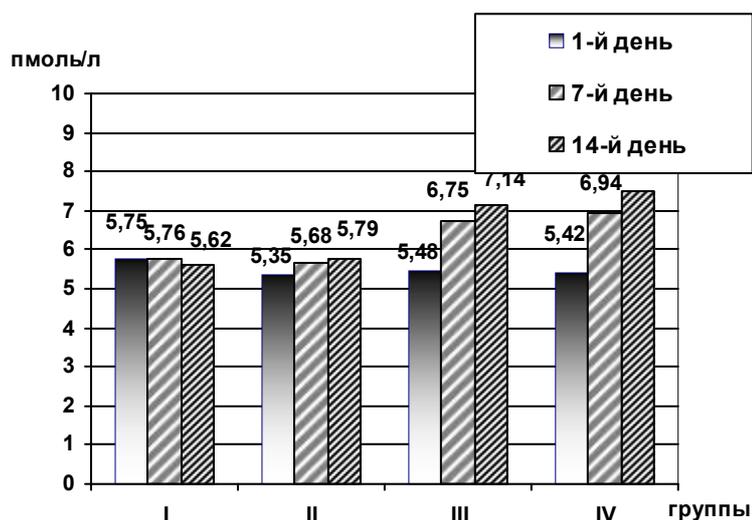


Рисунок 2 – Содержание Т3 свободного в сыворотке крови быков-производителей, пмоль/л

По данным, представленным на рисунке 2, видно, что содержание в крови тироксина увеличивалось во всех опытных группах, но наиболее заметна была разница с контролем в третьей и четвертой группах. Так на 7-й день опыта показатели в третьей группе превышали показатели в контрольной на 17 %, в четвертой – на 20,5%. К концу опыта эти показатели были достоверно выше контроля на 27 и 33 % соответственно.

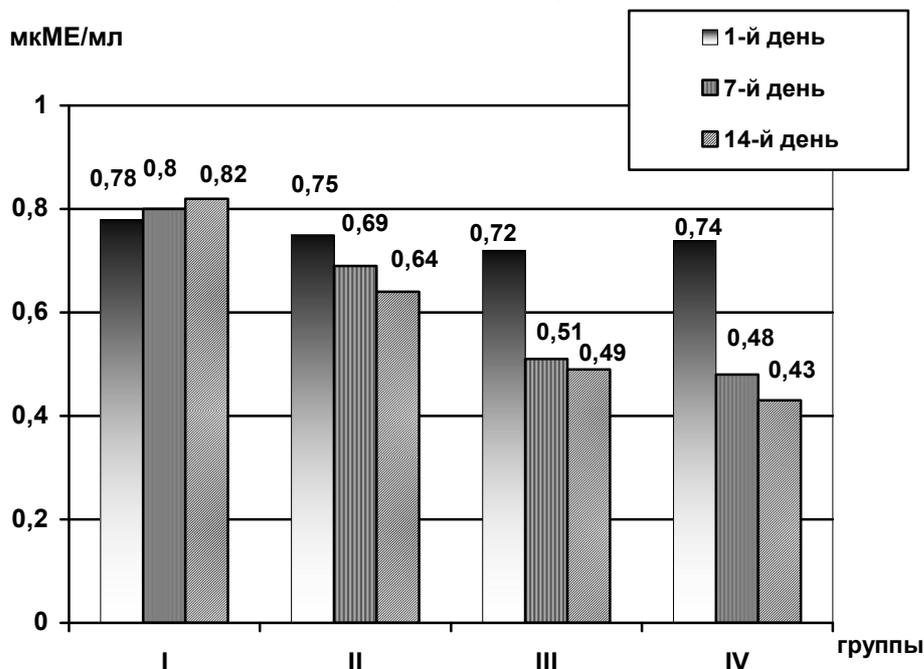


Рисунок 3 – Содержание ТТГ в сыворотке крови быков-производителей, мкМЕ/мл

В динамике содержания тиреотропного гормона наблюдалась тенденция к уменьшению его содержания в сыворотке крови опытных групп животных, в группе контроля показатели практически не изменялись и оставались на достаточно высоком уровне. За все время опыта во второй группе содержание ТТГ снизилось на 14,6 %, в третьей – на 31,9 % и в четвертой группе – на 41,9 %, что, по нашему мнению, является результатом достаточного поступления йода в организм и показателем снижения стимуляции щитовидной железы аденогипофизом.

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что применение быкам-производителям витаминного препарата «Тривитамин» в сочетании с минералосодержащим препаратом «КМП плюс» способствует нормализации витаминно-минерального обмена организма животных. После сочетанного введения указанных препаратов в крови быков-производителей содержание витамина А увеличилось на 62 %, витамина Е - на 45 %, железа - на 50 %, марганца - на 19 %, цинка - на 22 %, кобальта - на 49 % и селена - на 7%. Применение препаратов также оказывало стимулирующее действие на функцию щитовидной железы: содержание в крови тироксина увеличилось в 2 раза, трийодтиронина – на 38 %, содержание тиреотропного гормона, напротив, снизилось на 41,9 %.

Литература 1. Дульнев, В. О профилактике нарушений обмена веществ у коров и телят в зимний период / В. Дульнев // Молочное и мясное скотоводство. – 2000. - №1. – С. 20-21. 2. Ковалёнок, Ю.К. Микроэлементозы крупного рогатого скота и свиней в Республике Беларусь : монография / Ю.К. Ковалёнок. – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 196 с. 3. Ковзов, В.В. Пищеварение и обмен веществ у крупного рогатого скота: монография / В.В. Ковзов, С.Л. Борознов.– Минск: Бизнесофсет, 2009. – 316 с. 4. Ковзов, В.В. Особенности обмена веществ у высокопродуктивных коров: Практическое пособие для ветеринарных врачей, зооинженеров, студентов факультета ветеринарной медицины и слушателей ФПК / В.В. Ковзов.– Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – 161 с. 5. Кучинский, М. П. Биозлементы – фактор здоровья и продуктивности животных / М. П. Кучинский. – Минск : Бизнесофсет, 2007. – 372 с. 6. Микроэлементозы сельскохозяйственных животных: диагностика, лечение и профилактика: Справочник / А.П. Курдеко, А.А. Маценович, Ю.К. Коваленок. — Витебск: УО ВГАВМ, 2005 - 162 с. 7. Рекомендации по использованию витаминно-минерально-антиоксидантных премиксов в кормлении быков-производителей : рекомендации / М. М. Карпеня, И. И. Горячев, Н. Г. Корбан. – Витебск: ВГАВМ, 2012. – 19 с. 8. Рекомендации по витаминно-минеральному питанию быков-производителей / С. Л. Карпеня, В. И. Шляхтунов, И. И. Горячев, М. М. Карпеня. – Витебск : ВГАВМ, 2009. – 19 с. 9. Рекомендации по использованию органической формы селена в кормлении быков-производителей : рекомендации / М. М. Карпеня, И. И. Горячев, Н. Г. Корбан. – Витебск: ВГАВМ, 2011. – 19 с.

Статья передана в печать 03.04.2015 г.

УДК 619:616. 98:579.842. 14:636.4:611

СТИМУЛЯЦИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ «ТРИВИТАМИН» И «КМП плюс»

Кузьменкова С.Н., Ковзов В.В., Волков Л.В.

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

В результате проведенных исследований установлено, что применение быкам-производителям витаминного препарата «Тривитамин» в сочетании с минералосодержащим препаратом «КМП плюс» улучшает качественные и количественные показатели спермы.

The studies found that the use of bulls-manufacturers vitamin preparation "Trivitamin" in combination with the minerals containing the drug "KMP plus" improves the quality and quantity of sperm.

Ключевые слова: быки-производители, витамины, воспроизводительная функция, микроэлементы, обмен веществ, спермопродукция.

Keywords: bulls-manufacturers, vitamins, reproductive function, trace elements, metabolism, semen product.

Введение. Проблемы, связанные с размножением животных, были и остаются одними из наиболее сложных, актуальных и значимых проблем теоретической биологии. Постоянный интерес к ним не исчерпывается чисто теоретическим направлением исследований, поскольку все достижения в данной области непосредственно связаны с кардинальными вопросами развития животноводства и постоянно находят прямой и эффективный выход в практику.

Выдающийся ученый биолог, профессор Илья Иванович Иванов по праву признан основоположником и разработчиком метода искусственного осеменения сельскохозяйственных животных, позволившего использовать наиболее ценных в племенном отношении самцов и получать от них в сотни раз больше потомства, чем при естественном спаривании [1, 9].

На реализацию генетического потенциала быков-производителей оказывает влияние их воспроизводительная способность, нарушение которой в условиях племенных предприятий встречается нередко, особенно в зимне-весенний период, что приводит к нарушению сперматогенеза, слабому проявлению или отсутствию половых рефлексов.

Повышение эффективности репродукционного процесса является решающим фактором повышения продуктивности молочного скотоводства без дополнительных капиталовложений и производственных затрат. В связи с этим во всем мире разрабатываются и внедряются в практику высокоэффективные приемы, обеспечивающие повышение спермопродукции высокоценных самцов и оплодотворяемости самок [9, 10, 11].

Материалы и методы исследований. Работа по стимуляции репродуктивной функции быков-производителей с помощью витаминного препарата «Тривитамин» и минералосодержащего препарата «КМП плюс» была проведена в условиях РУСХП «Оршанское племпредприятие» Оршанского района, Витебской области, в НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины» (аттестат аккредитации лаборатории № ВУ /112 02.1.0.0870) и на кафедре нормальной и патологической физиологии животных УО ВГАВМ.

В РУСХП «Оршанское племпредприятие» Оршанского района, Витебской области по принципу пар-аналогов было сформировано четыре группы животных по 10 голов в каждой. Быки были клинически здоровы, содержались в типовых постройках, обеспечены хорошими кормами согласно рационам и были в состоянии заводской упитанности. Быки 1-й группы служили контролем. Быкам 2-й группы вводили витаминный препарат «Тривитамин» в дозе 7 см³ на животное, на 1-й, 7-й и 14-й дни опыта. Быкам 3-й группы вводили минералосодержащий препарат «КМП плюс» в дозе 10 см³ на животное однократно. Быкам 4-й группы вводили оба указанных препарата в тех же дозах.

В 1,0 см³ препарата «Тривитамин» содержится: 30000 МЕ витамина А, 40000 МЕ витамина D3 и 20 мг витамина Е. В 1 см³ ветеринарного препарата «КМП плюс» содержится 20 мг железа, 4,5 мг йода, 0,08 мг

марганца, 1,0 мг селена, 2,0 мг цинка, 0,04 мг кобальта. Препараты «Тривитамин» и «КМП плюс» применяют крупному рогатому скоту для профилактики заболеваний, обусловленных дефицитом входящих в их состав биоэлементов.

Основным объектом исследований была сперма быков. Поскольку продолжительность сперматогенеза у быков составляет в среднем 54 дня [В.И. Георгиевский, 1990], сперму для исследований у быков-производителей брали на 50-60 суток после введения препаратов. Определяли качественные и количественные показатели спермы. Для исследований использовали свежеполученные эякуляты.

Массу эякулята определяли взвешиванием на весах типа ВЛКТ-200 или ВЖТ-500 [Ф.И.Осташко, В.А. Шинкаренко, 1972]. Активность спермиев определяли визуально под микроскопом при увеличении в 140-200 раз при температуре +38 °С по десятибалльной шкале. Концентрацию половых клеток определяли фотоэлектроколориметрически [Ф.И.Осташко и Г.С. Гайворонский, 1960, 1963] и путем подсчета спермиев в счетной камере Горяева для форменных элементов крови.

Обрабатывали результаты с помощью пакета статистического анализа Excel.

Результаты исследований. От быков IV группы впервые была получена сперма в возрасте 10 месяцев, от быков II и III групп в возрасте 11 месяцев, от быков I группы в возрасте 11,5 месяца.

Начальным этапом оценки полученной спермы был органолептический способ непосредственно сразу после взятия. При оценке спермы по цвету, запаху и консистенции каких-либо отклонений от нормативных показателей во всех группах животных не выявлено. Однако по объему эякулята показатели опытных групп животных несколько отличались от контрольной группы. Установлено, что бычки IV группы по объему эякулята превосходили сверстников I группы на 0,53 мл, или на 12,6 % ($P \leq 0,001$), бычки III группы – на 0,33 мл, или на 8 % и бычки II группы на 0,1 мл, или на 2 % (рисунок 1).

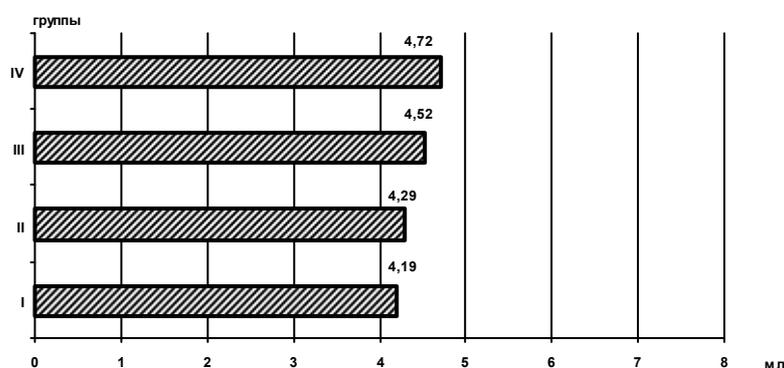


Рисунок 1 – Объем эякулята быков-производителей опытных и контрольной групп, мл

Анализируя результаты микроскопических исследований, также можно отметить положительную динамику воспроизводительной функции опытных групп животных. Так активность спермы у животных IV группы достоверно превышала активность спермы быков контроля на 6,8 % ($P \leq 0,001$), III группы – на 3,8 % ($P \leq 0,001$), II группы – на 1,9 % ($P \leq 0,01$) (рисунок 2). Это можно объяснить существенным влиянием на подвижность спермиев и оплодотворяющие свойства эякулята таких микроэлементов, как йод, марганец, селен и цинк.

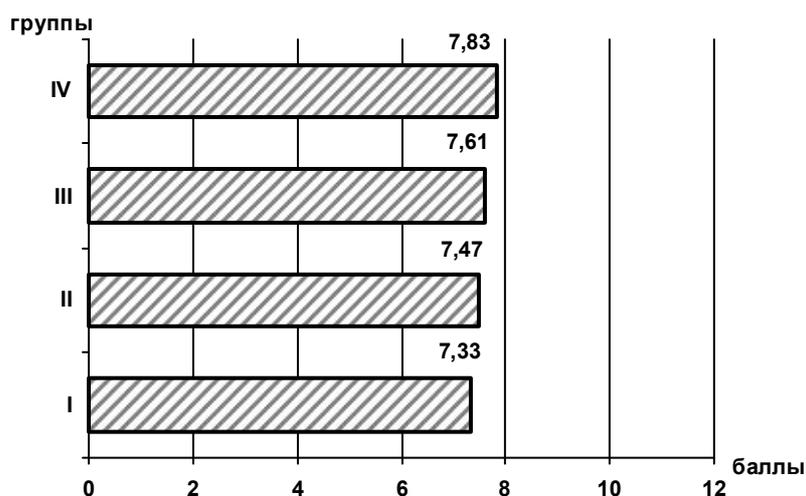


Рисунок 2 – Активность спермы быков-производителей опытных и контрольной групп, баллы

Концентрация спермиев в эякуляте у бычков IV группы была достоверно выше, чем у бычков контрольной группы на 0,19 млрд./мл, или на 28,4 % ($P \leq 0,001$), у бычков III группы на 0,12 млрд./мл, или на 17,9% ($P \leq 0,001$), у бычков II группы на 0,05 млрд./мл, или на 7,5 % (рисунок 3).

Концентрация спермиев сама по себе не отражает общего их количества в эякуляте, поэтому с учетом концентрации и объема эякулята подсчитывали число спермиев.

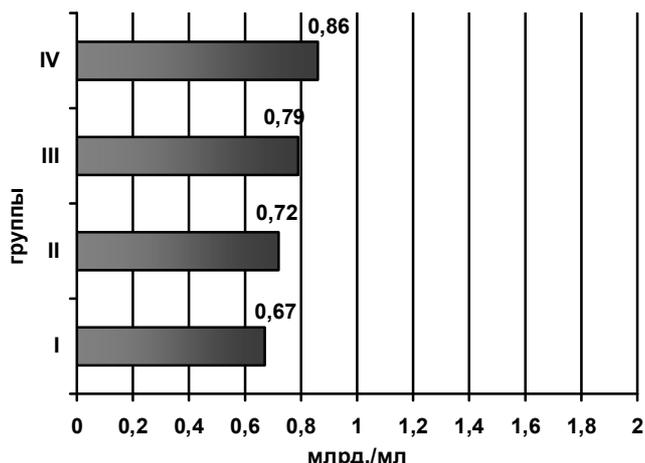


Рисунок 3 - Концентрация спермиев в эякуляте быков-производителей опытных и контрольной групп, млрд./мл

В результате подсчета количества спермиев установлено, что у бычков IV группы количество спермиев в эякуляте было выше, чем у бычков контрольной группы на 1,25 млрд., или на 44,5 % ($P \leq 0,001$), у бычков III группы на 0,77 млрд., или на 27,4 % ($P \leq 0,001$), у бычков II группы на 0,28 млрд., или на 10 % ($P \leq 0,001$) (рисунок 4).

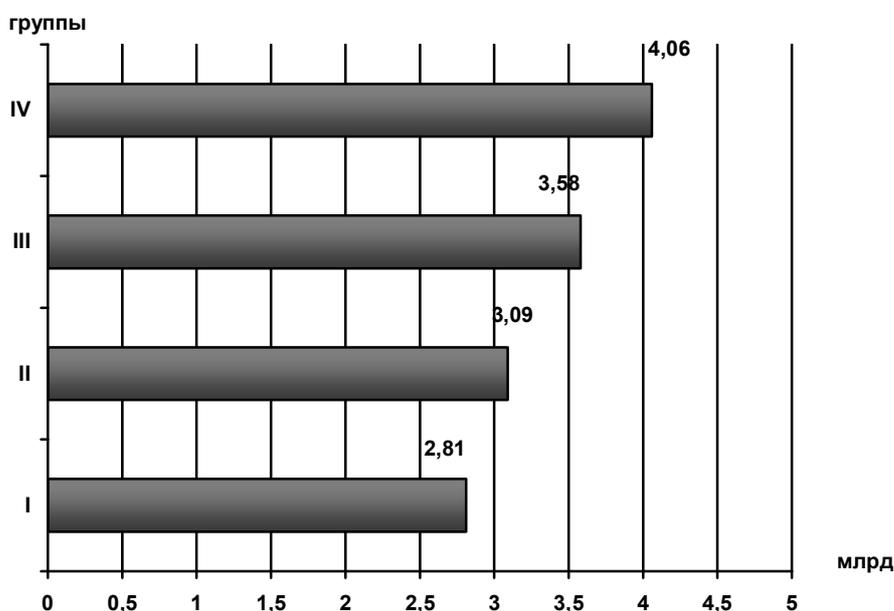


Рисунок 4 - Количество спермиев в эякуляте быков-производителей опытных и контрольной групп, млрд.

Заключение. Таким образом, применение витаминных и минеральных препаратов стимулирует воспроизводительную функцию быков-производителей. Согласно нашим данным, наиболее эффективно сочетанное применение витаминного препарата «Тривитамин» и минералсодержащего препарата «КМП плюс». На 50-60 сутки после введения препаратов у быков-производителей объем эякулята увеличился на 12,6%, активность спермы - на 6,8 %, концентрация и количество спермиев в эякуляте - на 28,4 % и 24,7 % соответственно по отношению к данным показателям в контрольной группе.

Литература 1. Валушкин, К.Д. *Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных* / К.Д. Валушкин, Г.Ф. Медведев. – Минск : Ураджай, 2001. – 861 с. 2. Георгиевский, В.И. *Физиология сельскохозяйственных животных* / В.И. Георгиевский. – Москва: Агропромиздат, 1990. – С 395-425. 3. Дульнев, В. *О профилактике нарушений обмена веществ у коров и телят в зимний период* / В. Дульнев // *Молочное и мясное скотоводство*. – 2000. - №1. – С. 20-21. 4. Ковалёнок, Ю.К. *Микроэлементозы крупного рогатого скота и свиней в Республике Беларусь : монография* / Ю.К. Ковалёнок. – Витебск : ВГАВМ, 2013. – 196 с. 5. Ковзов, В.В. *Пищеварение и обмен веществ у крупного рогатого скота: монография* / В.В. Ковзов, С.Л. Борознов.– Минск: Бизнесофсет, 2009. – 316 с. 6. Ковзов, В.В. *Особенности обмена веществ у высокопродуктивных коров: Практическое пособие для ветеринарных врачей, зооинженеров, студентов факультета ветеринарной медицины и слушателей ФПК* / В.В. Ковзов.– Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – 161 с. 7. Кучинский, М. П. *Биоэлементы – фактор здоровья и продуктивности животных* / М. П. Кучинский. – Минск : Бизнесофсет, 2007. – 372 с. 8. *Микроэлементозы сельскохозяйственных животных: диагностика, лечение и профилактика: Справочник* / А.П. Курдеко, А.А. Мацинович, Ю.К. Коваленок. – Витебск: УО ВГАВМ, 2005 - 162 с. 9. *Рекомендации по использованию витаминно-минерально-антиоксидантных премиксов в кормлении быков-производителей : рекомендации* / М. М. Карпеня, И. И. Горячев, Н. Г. Корбан. – Витебск: ВГАВМ, 2012. – 19 с. 10. *Рекомендации по витаминно-минеральному питанию быков-производителей* / С. Л. Карпеня, В. И. Шляхтунов, И. И. Горячев, М. М. Карпеня. – Витебск : ВГАВМ, 2009. – 19 с. 11.

УДК 616.62-002:636.2

УРОЦИСТИТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**Курдеко А.П., Сонов А.А.**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*Уроцистит у коров, выбракованных по хозяйственным причинам, обнаружен у 14,7 % животных. У крупного рогатого скота на откорме поражения слизистой оболочки мочевого пузыря установлены в единичных случаях. Уроцистит характеризуется в основном катарально-геморрагическим воспалением с гиперемией сосудов, вакуолизацией клеток эпителия, инфильтрацией слизистой оболочки лимфоцитами и макрофагами. Из осадка мочи у больных животных выделены *Escherichia coli* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. Клинически уроцистит проявляется поллакизурией, ишурией и странгурией. При анализе мочи установлены эритроцитурия, лейкоцитурия и протеинурия. Высокой лечебной эффективностью при уроцистите обладает ветеринарный препарат «Рецеф 4,0», к которому чувствительна выделенная из мочевого пузыря микрофлора.*

According to the results of our research we can make a conclusion about that affections of mucous membrane of bladder are registered and are typical mainly for productive dairy cattle. It is connected first of all with the appearance of different metabolic disorders of animals, affections of inner organs and also chronic fodder intoxications during the process of intensive exploitation of animals. Anatomical closeness of the urinary and the reproductive system of cows also plays an important role, this contributes to great bacterial contamination of the distal part of the urinary tract in postpartum period. These factors must be taken into consideration during diagnostics of diseases of the urinary system and during the organization of treating activities, all this will contribute to the efficiency of organized veterinary activities and will increase the quality and quantity of production.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, коровы, уроцистит, диагностика, лечение.**Keywords:** cattle, cows, urostit, diagnosis, treatment.

Введение. Государственная программа развития скотоводства нацеливает сельскохозяйственные организации на повышение объемов производимых молочных продуктов и улучшение их ветеринарно-санитарного качества. Это достигается, как правило, за счет роста продуктивности животных в условиях промышленного ведения отрасли. Одновременно с этим отмечается устойчивая тенденция возрастания количества выбракованных животных как по причине низкой продуктивности, так и в результате различных болезней. При этом структура последних меняется в зависимости от используемой технологии содержания и эксплуатации животных. Так, например, в последнее время появляется все больше сообщений о сочетанном течении целого ряда внутренних болезней, таких, как дистонии преджелудков и кетоз, миокардоз, гепатоз и остеодистрофия, ацидоз рубца и гиповитаминозы А, D и т.д. [1, 2, 3]. Ряд авторов, особенно зарубежных, отмечает возрастание у высокопродуктивных коров числа ранее редко встречающихся болезней – жирового гепатоза, смещения сычуга, нефроза и некоторых других [4, 5, 6]. Одновременно с этим, часто имеет место ориентация врача на диагностику этих наиболее распространенных болезней, а на состояние других органов, наличие клинически менее выраженных патологий внимание обращается недостаточно. Имеет место гиподиагностика этих заболеваний, хотя учитывать их необходимо при организации лечебно-профилактических мероприятий.

К ним относятся болезни мочевыделительной системы у коров, в первую очередь, почек и мочевого пузыря. Их диагностика затруднена из-за субклинического течения, необходимости комплексной диагностики, включающей как клинические, так и инструментальные, лабораторные методы, а также большой компенсаторной способностью органов системы. Поражения мочевыделительной системы у коров возникают на фоне первичных заболеваний и являются, как правило, сопутствующими или вторичными. Они возникают на фоне акушерско-гинекологических патологий, кормовых интоксикаций, а также метаболических нарушений и т.д. Эти, как и другие внутренние болезни, в значительной степени снижают резистентность организма, из-за них происходит активизация условно-патогенной и патогенной микрофлоры. В мочевом пузыре и уретре развивается воспалительный процесс. Клинически уроцистит у коров в течение периода их хозяйственного использования диагностируется в единичных случаях и, как результат, лечебная помощь при данной патологии животным не оказывается.

Материалы и методы. Для уточнения степени распространения уроциститов у крупного рогатого скота, нами проведен с сентября по декабрь 2014 года осмотр мочевых пузырей в условиях ОАО «Витебский мясокомбинат». Было осмотрено 2088 мочевых пузырей, из них 497 от животных, в основном коров, выбракованных по хозяйственным соображениям. Осмотр производили на точке ветеринарно-санитарного контроля желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы.

Также, для подтверждения наличия уроцистита у крупного рогатого скота, проводили общий анализ мочи экспресс-методом, используя тест-полоски Combina11S. Данный метод позволяет определять различные

показатели мочи, в том числе непосредственно указывающие на наличие воспалительного процесса: содержание в моче эритроцитов, лейкоцитов, белка, нитритов, сахара, билирубина, уробилиногена, кетоновых тел, а также позволяет определить удельный вес мочи. Исследованию было подвергнуто 10 проб мочи от вынужденно убиваемых коров.

Для изучения морфологии слизистой оболочки мочевого пузыря отбирали кусочки тканей на границах здорового и пораженного участков. Отбор материала также проводили в условиях ОАО «Витебский мясокомбинат». Взятие материала проводили с помощью хирургических инструментов, делая разрез вдоль стенки пузыря, далее проводили осмотр слизистой оболочки. Было отобрано 37 проб слизистой оболочки. Фиксацию проб тканей проводили в 10% растворе формалина. Примененный гистологический метод включал в себя приготовление гистологических срезов и их микроскопическое исследование. Гистологические срезы готовили на микротоме HM 340E. Полученные препараты окрашивали гематоксилин-эозином. Приготовленные и окрашенные гистологические препараты подвергли микроскопии, используя микроскоп OLYMPUS BX 51. Обработка полученных изображений проводилась с помощью программ Image Scope M и cell Sens Standard.

В целях обнаружения микрофлоры в мочевых пузырях, применили бактериологический метод исследования. Были отобраны пробы – мазки со слизистой оболочки мочевого пузыря с поражениями слизистой: воспалительный процесс, кровоизлияния, изъязвления, от коров, подвергнутых вынужденному убою по клиническим и продуктивным показаниям. В дальнейшем делали посевы на мясопептонный агар (МПА), из полученных культур для дифференциации выселенных микроорганизмов приготовили мазки-отпечатки и окрасили их по Граму. Далее определяли чувствительность данных микроорганизмов к антибактериальным средствам «Рецеф 4,0» и «Кобакто Бел».

С целью уточнения способов диагностики уроцистита у коров, в условиях СПК «Ольговское» Витебского района клиническому, инструментальному и лабораторному исследованию были подвергнуты 10 коров в послеродовой период. Все животные имели симптомы послеродового эндометрита, вагинита, вестибуловагинита. Мочевой пузырь исследовали основными (осмотр, пальпация) и инструментальными (ультрасонография) методами. Также проводили анализ крови и мочи [7]. Статистическую обработку цифрового материала проводили с использованием программного пакета Microsoft Excel. Результаты исследований приведены в Международной системе единиц СИ.

Результаты. При осмотре мочевого пузыря установлено, что поражения слизистой оболочки составляют 14,7 % и выявлены в 73 случаях из 497 коров, которые выбракованы по причинам низкой продуктивности, яловости, мастита и некоторых других. От общего количества осмотренных мочевого пузыря – 2088 голов крупного рогатого скота, распространение патологий мочевого пузыря составляет 3,5 %. При этом среди откормочных быков, подвергнутых убою, патологические изменения в мочевом пузыре зарегистрированы крайне редко, всего в 3 случаях. В подавляющем большинстве уроцистит протекает остро, в форме катарального или катарально-геморрагического воспаления (рисунок 1). Также в ряде случаев обнаружены эрозивно-язвенные поражения слизистой оболочки (рисунок 2). При хроническом течении уроцистита типично было также наличие полипозных образований (рисунок 3).



Рисунок 1 – Катарально-геморрагический уроцистит у коровы



Рисунок 2 – Язвы слизистой оболочки мочевого пузыря



Рисунок 3 – Полипозные образования на слизистой оболочке

При исследовании посредством тест-полосок мочи, полученной от выбракованных коров, были обнаружены эритроциты, лейкоциты, белок, а также смещение pH в щелочную сторону. Изменение данных показателей в моче свидетельствует о наличии патологического процесса в мочевыделительной системе. При гистологическом исследовании было установлено, что уроцистит у крупного рогатого скота имеет изменения, характерные для воспалительного процесса. При этом повреждения имели несколько степеней: легкую, среднюю и тяжелую.

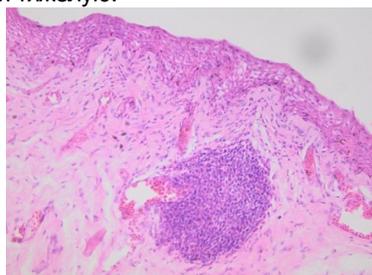


Рисунок 4 – Легкая степень уроцистита у коровы: гиперемия сосудов, лимфоцитарные узлы, вакуолизация клеток слизистой оболочки. Окрашка гематоксилин-эозином. Увеличение: x 200

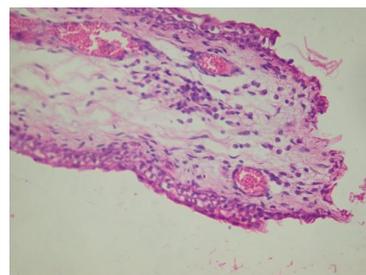


Рисунок 5 – Уроцистит у коровы: гиперемия сосудов, инфильтрация слизистой оболочки лимфоцитами и макрофагами, обнажение собственной пластинки. Окрашка гематоксилин-эозином. Увеличение: x 400

При легкой степени повреждений отмечали гиперемию венозных и артериальных капилляров собственной пластинки слизистой оболочки. В отдельных участках эпителий слизистой оболочки вакуолизирован – интрацеллюлярный отек, клетки располагаются в несколько слоев, от 3 до 5, что является следствием компенсаторно-приспособительной реакции. В собственной пластинке слизистой оболочки была отмечена мало и средне выраженная степень инфильтрации лимфоцитами и макрофагами (рисунок 5).

В единичных участках слизистой оболочки эпителий отсутствует и собственная пластинка обнажена. В отдельных случаях наряду с лимфоцитами и макрофагами были обнаружены в большом количестве эозинофилы, что указывает на хроническую интоксикацию.

Средняя степень повреждений в свою очередь характеризуется наличием крупных и протяженных участков вакуолизированных клеток эпителиального слоя слизистой оболочки. Количество слоев вакуолизированных клеток достигает 10 – 12 (рисунок 6).

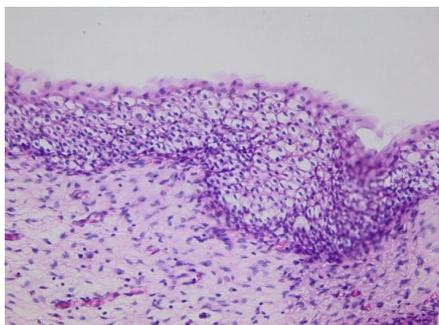


Рисунок 6 – Уроцистит у коровы: инфильтрация лимфоцитами и макрофагами, многослойная массивная вакуолизация клеток. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: x 200

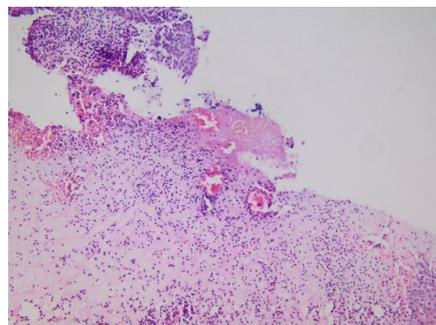


Рисунок 7 – Некротический уроцистит, кровоизлияния, инфильтрация слизистой оболочки лимфоцитами и макрофагами. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение: x 200

В собственной пластинке слизистой оболочки отмечали кровоизлияния. Инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки лимфоцитами, макрофагами и эозинофилами была как мелко и среднеочаговая, так и диффузная.

При тяжелой степени повреждений обнаружены обширные кровоизлияния в собственной пластинке слизистой оболочки мочевого пузыря, некроз эпителия с обнажением собственной пластинки на значительном протяжении (рисунок 7).

Также отмечена крупноочаговая и диффузная инфильтрация собственной пластинки и мышечной оболочки мочевого пузыря лимфоцитами, макрофагами и эозинофилами. В результате проведения микробиологических исследований: посева культур, окраски по Граму, выделения чистых культур, были обнаружены штаммы следующих микроорганизмов: *Escherichia coli* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. При определении чувствительности, нами установлено, что зона задержки роста указанных микроорганизмов распространялась практически по всей площади используемых чашек Петри, что говорит о высокой чувствительности микроорганизмов к препаратам «Рецеф» и «Кобакто Бел», являющимся представителями антибактериальных препаратов группы цефалоспоринов.

При клиническом исследовании животных в условиях СПК «Ольговское» Витебского района установили, что у 70 % животных выявлены симптомы поражения мочевыделительной системы: поллакизурия – частые позывы к мочеиспусканию с выделением небольших порций мочи; ишурия – коровы принимали характерные позы для мочеиспускания, но моча выделялась слабой струйкой; странгурия – болезненное мочеиспускание.

При экспресс-анализе мочи с помощью тест-полосок у 80% коров в моче установлена эритроцитурия, у 60 % – лейкоцитурия, у 30 % – протеинурия. Величина pH мочи при этом варьировала от 5,5 до 8,0 ед, при нормальных значениях от 5,9 до 7,0 ед, а удельный вес составил 1,010 – 1,025 кг/л (норма: 1,015 – 1,045).

Ректальное исследование коров не всегда позволяло оценить состояние мочевого пузыря из-за сложностей с его обнаружением. Он часто смещался глубже в брюшную полость по причине значительно увеличенной матки. По этой же причине также было затруднено и ультразвуковое исследование мочевого пузыря. При общем клиническом анализе крови число лейкоцитов у больных коров приближалось к верхней границе нормативных значений и составило $11,0 \pm 1,02 \times 10^9$ /л (норма: 4,5 – $12,0 \times 10^9$ /л). Также установлена гипогемоглобинемия (гипохромемия) до $95,8 \pm 4,63$ г/л (100,0 – 130 г/л). Отмечались наиболее значительные изменения активности аланинаминотрансферазы, которая составила $83,08 \pm 3,569$ Е/л (16 – 33 Е/л). Активность аспартатаминотрансферазы также была несколько повышенной – $96,38 \pm 6,900$ Е/л (35 – 94 Е/л). Концентрация мочевины была сниженной до $0,95 \pm 0,117$ (3,3 – 6,7 ммоль/л), что типично для содержания животных на преимущественно углеводистом рационе при недостатке белка. Уровень креатинина при этом превышал нормативные значения и достигал $83,09 \pm 3,560$ мкмоль/л (39,6 – 57,2 мкмоль/л). Такая его концентрация свидетельствует, скорее всего, об увеличенном количестве токсичных продуктов обмена в организме и не является показателем почечной недостаточности, при которой уровень креатинина достигает 200 и более мкмоль/л [8].

При изучении терапевтической эффективности препарата «Рецеф», нами были сформированы две группы животных – опытная и контрольная. В каждую группу было включено по 5 голов на основании физиологического периода – после отела, живой массы, а также клинического осмотра животных и имеющие характерные признаки поражения мочеполовой системы: послеродовые эндометриты, вагиниты, вестибулиты, вульвиты, а также нарушения диуреза.

Для лечения животных применялись следующие препараты: метрикур 1 шприц внутриматочно, утерон 10 мл внутримышечно, раствор кальция хлорида 300 мл и раствор глюкозы 40% 500 мл внутривенно, кобакто

бел 1 мл на 50 кг, рецеф 1 мл на 50 кг, мультивит+минералы 15 мл, айнил 1 мл на 50 кг массы тела внутримышечно. Для лечения коров при вагините и вестибулите, при подозрении на уроцистит в схему лечения вводили айнил. Препарат «Метрикур» применяли с интервалом 48 часов.

При применении указанных выше препаратов и проведении терапевтических манипуляций, клиническое выздоровление животных происходило на 5 – 7 дни лечения, в зависимости от поставленного диагноза и выраженности клинических признаков болезни.

Закключение. Уроцистит у коров, выбракованных по хозяйственным причинам, обнаружен у 14,7 % животных при анатомировании внутренних органов на мясокомбинате. У крупного рогатого скота на откорме поражения слизистой оболочки мочевого пузыря установлены в единичных случаях. Уроцистит характеризуется в основном катарально-геморрагическим воспалением с гиперемией сосудов, вакуолизацией клеток эпителия, инфильтрацией слизистой оболочки лимфоцитами и макрофагами. Из осадка мочи у больных животных выделены *Escherichia coli* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. Клинически у коров уроцистит проявляется поллакизурией, ишурией и странгурией. При анализе мочи установлены эритроцитурия, лейкоцитурия, протеинурия со смещением pH мочи в щелочную сторону. Высокой лечебной эффективностью при уроцистите обладает ветеринарный препарат «Рецеф 4,0», к которому чувствительна выделенная из мочевого пузыря микрофлора.

Литература. 1. Абрамов, С.С. Особенности обмена веществ у высокопродуктивных коров в разные физиологические периоды с биохимическими изменениями, характеризующие полиморбидную патологию / С.С. Абрамов, Е.В. Горидовец // Ученые записки : [сборник научных трудов] : научно-практический журнал / УО ВГАВМ. – Витебск, 2011. – Т. 47, вып.1. – С. 138 – 140. 2. Левченко, В.І. Поширення, етіологія, особливості перебігу та діагностики множинної внутрішньої патології у високопродуктивних корів / В.І. Левченко, В.В. Сахнюк, О.В. Чуб // Науковий вісник ветеринарної медицини: 36. наук. праць. – Біла Церква, 2010. – Вип. 5 (78). – С. 97- 102. 3. Кондрахин И.П. Полиморбидность внутренней патологии / И.П. Кондрахин // Ветеринария. – 1998. - №12. - С. 38-40. 4. Бруверис, З. А. Распространение болезней печени у дойных коров в стадах Латвии и разработка эффективных ветеринарных препаратов для профилактики гепатоза / З.А. Бруверис, Я.Б. Римейцан // Вет. и зооинж. проблемы в животноводстве и науч.-метод. обеспеч. учебного процесса. – Мн., 1997. – С. 74 – 75. 5. Acorda J.A. Comparative evaluation of fatty infiltration of the liver in dairy cattle by using blood and serum analysis, ultrasonography, and digital analysis / Acorda J.A., Yamada H., Ghamsari S.M. // Vet-Q. – 1995. – 17 (1). – P. 12 - 14. 6. Van Winden, S. Displacement of the abomasum in dairy cows-risk factors and pre-clinical alterations / Dissertation Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine – with summary in Dutch. – Utrecht, 2002. – 112 S. Режим доступа: <http://igitur-archive.library.uu.nl/dissertations/2003-0114-103219/ml.pdf>. 7. Дубина, И.Н. Методические указания по биохимическому исследованию крови животных с использованием диагностических наборов / И.Н. Дубина, А.П. Курдеко [и др.]. – Витебск, 2008. – 60 с. 8. Курдеко, А.П. Интегральные константы гепатопатий крупного рогатого скота и их связь с определяющими факторами / А.П. Курдеко, Ю.К. Коваленок // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник научных трудов. – Горки, 2012. – Вып. 15, ч. 2. – С. 388 – 397.

Статья передана в печать 23.04.2015 г.

УДК 619:591.434:598.252.2

КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИМФОИДНЫХ И ЭНДОКРИННЫХ СТРУКТУР ДИВЕРТИКУЛА МЕККЕЛЯ ГУСЕЙ

Куц Н.Н., Бырка Е.В.

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина

Выполнен корреляционный анализ морфометрических показателей гистологических структур дивертикула Меккеля гусей 1-суточного – 1-летнего возраста. Установлены корреляции между длиной и шириной ДМ, длиной его складок, площадью лимфоидных скоплений, количеством лимфоцитов кластеров CD4 +, CD8 + и CD45RA+, количеством аргирофильных и аргентафинных эндокриноцитов, что указывает на их существенную функциональную связь.

Correlation analysis between morphometric parameters of geese Meckel diverticulum 1-day – 1-year age have been performed. The correlation between the length and width of the Meckel diverticulum, the length of its folds, an area of lymphoid aggregates, the number of lymphocytes clusters CD4 +, CD8 + and CD45RA+, and the number of argiophilic and argentaffin cells have been established, indicating that its essential functional connection.

Ключевые слова: корреляция, гуси, дивертикул Меккеля, лимфоидная ткань, кластеры лимфоцитов, апудоциты.

Keywords: correlation, geese, Meckel` diverticulum, lymphoid tissue, lymphocytes clusters, apud cells.

Введение. Одной из фундаментальных задач современной морфологии является определение закономерностей становления и строения органов иммуногенеза, которые обеспечивают гомеостаз организма [6].

Особенное место среди периферических органов иммунитета занимают иммунные образования пищеварительной трубки, подэпителиальная лимфоидная ткань которых создает мощный защитный барьер - систему GALT [5, 11].

В 80-ые годы XX в. появляются первые сообщения относительно функционального значения дивертикула Меккеля (ДМ) птиц [16]. В постнатальном периоде онтогенеза ДМ (дивертикул тощей кишки, лимфоидный дивертикул) является периферическим органом иммунной системы птиц [3, 9].

Постоянный интерес вызывают вопросы взаимодействия органов иммунной и гуморальной систем, в состав которых относят АПУД-систему, составляющей которой является гастроэнтеропанкреатическая система (ГЭП-система), которая является наиболее большим и сложным эндокринным органом позвоночных животных [13]. Апудоциты кишечника представляют менее 1 % всех энтероцитов; среди которых выделяют по меньшей мере от 16 до 20 различных субпопуляций [14].

Сведения относительно видовых и возрастных особенностей строения ДМ неполные, иногда противоречивые [3, 10, 16]. Информация относительно взаимосвязей между его микроструктурами вообще отсутствует, что и обусловило задачу наших исследований.

Задачей исследований было определение корреляционных связей между морфометрическими показателями дивертикула Меккеля гусей в возрасте от 1 суток до 1 года.

Материал и методы исследований. Материал для исследований отбирали от клинически здоровых домашних гусей крупной серой породы 1-, 3-, 7-, 21-суточного, 1-, 2-, 3-, 6-, 8-месячного, а также 1-летнего возраста. Птицу содержали на глубокой подстилке в птичнике Харьковской государственной зооветеринарной академии. Гусей кормили полнорационным комбикормом согласно ДСТУ 4120-2002, они имели свободный доступ к воде, пользовались пастбищем. Профилактических прививок и противопаразитарных обработок не выполняли.

Для исследований от 5 голов птицы из каждой возрастной группы ДМ отбирали с 5-ти сантиметровым отрезком тощей кишки, от которой он отходил, устанавливая при этом его размер, топографию и форму. Линейные параметры ДМ определяли с помощью штангенциркуля (ГОСТ 166-89) и линейки (ГОСТ 17485-72). Отобранный материал фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина, заливали в парафиновые блоки, из которых изготавливали гистологические срезы. Для изготовления обзорных препаратов, выявления скоплений лимфоидной ткани парафиновые гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Методом Гримелиуса (аргиофильная реакция) выявляли общую популяцию эндокриноцитов [15]. Методом Массона-Гамперля в модификации I. Singh (аргентафинная реакция) идентифицировали энтерохромоаффинные (Ec-) клетки [17].

Гистологические препараты исследовали с помощью светового микроскопа JENAMED - 2. Количество эндокриноцитов, а также лимфоидных образований и их площадь определяли с помощью окулярной морфометрической сетки с последующим пересчетом на 1 мм² площади поперечного среза слизистой оболочки стенки ДМ. Толщину стенки, слизистой оболочки и размеры складок ДМ определяли с помощью окулярного микрометра МОВ-1-15х (100 делений) и микроскопа Биолам Л-212 [1]. Иммуногистохимические исследования кластеров лимфоцитов осуществляли на гистологических срезах методом непрямой иммунофлюоресценции по Кунсу [4] с использованием мышинных моноклональных антител, меченых флюоресцеинизотиоцианатом (ФИТЦ). При этом выявляли субпопуляции лимфоцитов, экспрессирующих антигенные маркеры CD4+ (Т-хелперы), CD8+ (Т-цитотоксические / Т-супрессоры), CD45RA+ (В-лимфоциты), основываясь на оценке их поверхностного фенотипа [7]. С помощью люминесцентного микроскопа XSP - 139A - TP на гистологических препаратах определяли содержание субпопуляций лимфоцитов, их размещение и количество (пересчитывали в пределах стандартной площади 1 мм²).

Оценку статистической достоверности количественных показателей осуществляли согласно критерию Стьюдента с использованием программы MicrosoftExcel [8]. Корреляционный анализ выполняли с помощью пакета *Анализ данных* программы MicrosoftExcel. Показатели корреляции (r) интерпретировали следующим образом: до 0,2 – очень слабая, от 0,2 до 0,5 – слабая, от 0,5 до 0,7 – средняя, от 0,7 до 0,9 – высокая и больше 0,9 – очень высокая [2].

Результаты исследований. Корреляционный анализ морфометрических показателей ДМ гусей в возрасте от 1 суток до 1 года позволил выявить различную степень функциональной зависимости между его микроструктурами. Результаты выполненных расчетов представлены в корреляционной матрице (таблица).

Полученные результаты свидетельствуют, что такие линейные показатели, как длина и диаметр ДМ имеют очень высокую степень корреляции с площадью слизистой (r = 0,94 и 0,92), высокую степень с площадью мышечной оболочки (r = 0,796 и 0,867), с высотой больших и средних складок слизистой оболочки (r = 0,86 и 0,86; 0,90 и 0,85) и среднюю – с высотой малых складок (r = 0,68 и 0,67) и площадью крипт (r = 0,60 и 0,55).

Выявлена тесная корреляционная связь длины и диаметра ДМ с показателями лимфоидной ткани его слизистой оболочки: очень высокая с площадью всей лимфоидной ткани (r = 0,92 и 0,91), высокая и очень высокая – с площадью диффузной лимфоидной ткани (r = 0,88 и 0,92), высокая и средняя – с количеством лимфоидных узелков (r = 0,84 и 0,60), высокая и средняя – с площадью первичных (r = 0,83 и 0,69), очень высокая и высокая – с площадью вторичных узелков (r = 0,95 и 0,72).

В то же время, площадь лимфоидной ткани имеет слабую корреляцию с площадью крипт (r = 0,45), шириной больших складок (r = 0,27) и не имеет – с площадью серозной оболочки (r = 0,13), шириной средних и малых складок (r = 0,11 и 0,07).

С другой стороны, площадь лимфоидной ткани ДМ имеет высокую корреляцию с массой тела (r = 0,75), линейными показателями ДМ – его длиной и диаметром (r = 0,92 и 0,91 соответственно), площадью всей стенки (r = 0,96) и его оболочек: слизистой (r = 0,97), мышечной (r = 0,84), высотой больших и средних складок (r = 0,71; 0,83 соответственно). Кроме того, установлена корреляция между длиной и диаметром ДМ и количеством лимфоцитов популяций в составе лимфоидных образований: средняя – с кластерами CD4+ и CD45RA+ (соответственно r = 0,71 и 0,71 и 0,74 и 0,74) и слабая – с CD8+ (r = 0,49 и 0,52).

Содержание лимфоцитов популяций CD4+, CD8+ и CD45RA+ в составе лимфоидной ткани слизистой оболочки ДМ имеет средние, слабые и высокие корреляции с возрастом и массой тела ($r = 0,66; 0,44$ и $0,71$). Выявленные тесные корреляции между количеством лимфоцитов популяций CD4+, CD8+ и CD45RA+ и показателями микроструктур ДМ: высокие и средние - с площадью его стенки ($r = 0,77; 0,58$ и $0,78$), площадью слизистой оболочки ($r = 0,75; 0,57$ и $0,77$), площадью мышечной оболочки ($r = 0,79; 0,64$ и $0,80$), высокие и очень высокие с – площадью крипт слизистой оболочки ($r = 0,92; 0,85$ и $0,88$). Установлена корреляция между количеством лимфоцитов кластеров CD4+, CD8+ и CD45RA+ и высотой складок слизистой оболочки: средняя и слабая – с высотой больших ($r = 0,64; 0,42$ и $0,68$) и средних складок ($r = 0,66; 0,41$ и $0,67$). С высотой малых складок и шириной всех трех видов складок она отсутствовала ($r = -0,02$ - $0,28$). Обращает на себя внимание наличие корреляций между количеством лимфоцитов популяций CD4+, CD8+ и CD45RA+ и площадью диффузной лимфоидной ткани ($r = 0,63; 0,40$ и $0,67$) и ее отсутствие с площадью лимфоидных узелков ($r = 0,06; 0,14$ и $0,05$), в т.ч. первичных и вторичных.

Количество аргирофильных эндокринных клеток слизистой оболочки ДМ имеет высокую обратную коррелятивную связь с показателем общей площади лимфоидных узелков, в т.ч. первичных и вторичных, ($r = -0,78; -0,84$ и $-0,72$ соответственно). В то же время, установлено отсутствие корреляции между количеством аргирофильных эндокриноцитов и общей площадью всей и диффузной лимфоидной ткани ДМ ($r = -0,27$ и $-0,02$). Хотя относительное содержание диффузной в составе всей лимфоидной ткани в разные возрастные периоды является значительным и равняется $80,2-100,0\%$.

Популяция аргентафинных эндокриноцитов, которые являются основным типом апудоцитов желудочно-кишечного тракта и местом синтеза экстрапинеального серотонина и мелатонина, является наибольшей составляющей ГЕП-системы [12]. Их коррелятивные связи с показателями других исследуемых структур подобны аргирофильным клеткам с некоторыми отличиями. Сравнительно с аргирофильными, количество аргентафинных эндокриноцитов ДМ имеет большую корреляцию с площадью крипт ($r = 0,68$ против $r = 0,51$), высотой больших, средних и малых складок слизистой оболочки ($r = 0,70$ против $0,43$; $r = 0,57$ против $0,20$ и $r = 0,45$ против $0,18$ соответственно). Кроме того, в отличие от аргирофильных, количество аргентафинных клеток прямо коррелирует с шириной таких складок ($r = 0,45; 0,48$ и $0,55$ против $r = 0,09; 0,32$ и $0,2$

Как и аргирофильные клетки, количество аргентафинных эндокринных клеток слизистой оболочки ДМ имеет обратную коррелятивную связь с показателем общей площади лимфоидных узелков, в т.ч. первичных и вторичных ($r = -0,73; -0,76$ и $-0,69$ соответственно). В то же время, отсутствовала корреляция между количеством аргирофильных эндокриноцитов и общей площадью всей и диффузной лимфоидной ткани слизистой оболочки ДМ ($r = -0,02$ и $-0,22$ соответственно).

Установлена слабая коррелятивная связь между содержанием аргирофильных и аргентафинных эндокриноцитов и количеством трех исследованных популяций лимфоцитов : CD4+, CD8+, CD45RA+ ($r = 0,47$ и $0,60; 0,42$ и $0,44; 0,45$ и $0,56$ соответственно).

Заключение. Использование математического метода анализа корреляций в морфологических исследованиях позволило выявить новые данные относительно функциональных взаимосвязей между микрометрическими показателями ДМ гусей.

1. Длина и диаметр ДМ гусей имеют прямые корреляции с площадью его слизистой и мышечной оболочек, высотой больших, средних и малых складок и площадью крипт.

2. Установлены прямые корреляции длины и диаметра ДМ с показателями его лимфоидной ткани: площадью всей лимфоидной ткани, в т.ч. диффузной, количеством лимфоидных узелков, в т.ч. первичных и вторичных.

3. Количество лимфоцитов популяций CD4+, CD8+ и CD45RA+ в составе лимфоидной ткани ДМ имеет прямую корреляцию с массой тела, площадью его стенки, в т.ч. слизистой и мышечной оболочек, площадью крипт, высотой больших и средних складок, площадью диффузной лимфоидной ткани. Корреляция исследованных кластеров лимфоцитов с площадью лимфоидных узелков отсутствует.

4. Количество аргирофильных и аргентафинных эндокриноцитов слизистой оболочки ДМ имеет высокую обратную коррелятивную связь с общей площадью лимфоидных узелков, в т.ч. первичных и вторичных. Корреляция между количеством эндокриноцитов и общей площадью всей и диффузной лимфоидной ткани ДМ отсутствует.

5. Сравнительно с аргирофильными, количество аргентафинных эндокриноцитов ДМ имеет большую корреляцию с площадью крипт, высотой больших, средних и малых складок и прямо коррелирует с шириной таких складок.

6. Подтверждена высокая прямая коррелятивная связь между количеством лимфоцитов с маркерами CD4+ и CD45RA+ и обратная – между лимфоцитами с маркерами CD4+, CD45RA+ и CD8+.

Таблица - Корреляционная матрица морфометрических показателей дивертикула Меккеля гусей 1-суточного - 1-летнего возраста

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1	1																								
2	0,86	1																							
3	0,13	0,20	1																						
4	0,06	0,29	0,77	1																					
5	0,01	0,27	0,85	0,93	1																				
6	0,04	0,25	0,76	0,95	0,94	1																			
7	0,51	0,68	0,41	0,60	0,55	0,67	1																		
8	0,07	0,23	0,74	0,94	0,92	0,99	0,66	1																	
9	0,14	0,37	0,65	0,80	0,87	0,93	0,75	0,92	1																
10	0,27	0,22	0,45	0,30	0,46	0,16	0,01	0,11	0,11	1															
11	0,43	0,70	0,73	0,86	0,86	0,77	0,56	0,75	0,71	0,45	1														
12	0,09	0,45	0,07	0,47	0,30	0,31	0,32	0,31	0,27	0,03	0,58	1													
13	0,20	0,57	0,61	0,90	0,85	0,89	0,66	0,88	0,85	0,16	0,90	0,63	1												
14	0,32	0,48	0,01	0,37	0,21	0,16	0,25	0,16	0,09	0,11	0,57	0,85	0,44	1											
15	0,18	0,45	0,57	0,68	0,67	0,51	0,14	0,49	0,39	0,57	0,88	0,60	0,73	0,57	1										
16	0,42	0,55	0,12	0,31	0,27	0,11	0,14	0,10	0,08	0,35	0,64	0,73	0,41	0,93	0,71	1									
17	0,23	0,02	0,75	0,92	0,91	0,96	0,45	0,97	0,84	0,13	0,71	0,27	0,83	0,11	0,54	0,07	1								
18	0,02	0,23	0,77	0,88	0,92	0,94	0,51	0,94	0,91	0,18	0,81	0,31	0,90	0,16	0,61	0,17	0,95	1							
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	0,41	0,51	0,53	0,84	0,60	0,78	0,27	0,80	0,38	0,34	0,64	0,44	0,06	0,32	0,72	0,71	0,74	0,44	1						
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	0,77	0,73	0,14	0,93	0,59	0,72	0,09	0,75	0,18	0,25	0,71	0,08	0,11	0,19	0,30	0,54	0,87	0,42	0,77	1					
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	0,84	0,76	0,08	0,83	0,69	0,72	0,16	0,73	0,28	0,16	0,80	0,08	0,12	0,33	0,26	0,58	0,88	0,49	0,65	0,96	1				
22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	0,72	0,69	0,17	0,95	0,53	0,70	0,06	0,74	0,13	0,29	0,65	0,08	0,10	0,11	0,31	0,50	0,84	0,37	0,81	0,99	0,91	1			
23	0,47	0,60	0,66	0,71	0,71	0,77	0,92	0,75	0,79	0,21	0,64	0,17	0,66	0,21	0,24	0,15	0,59	0,63	0,53	0,06	0,02	0,09	1		
24	0,42	0,44	0,44	0,49	0,52	0,58	0,85	0,57	0,64	0,07	0,42	0,06	0,41	0,22	0,02	0,14	0,39	0,40	0,56	0,13	0,06	0,17	0,89	1	
25	0,45	0,56	0,71	0,74	0,74	0,78	0,88	0,77	0,80	0,21	0,68	0,19	0,67	0,27	0,28	0,21	0,62	0,67	0,58	0,05	0,04	0,11	0,99	0,88	1

Примечание: 1 - количество аргирофильных апудоцитов; 2 - количество аргентафиновых апудоцитов; 3 - масса тела, г; 4 - длина ДМ, мм; 5 - диаметр ДМ, мм; 6 - площадь стенки ДМ, мм²; 7 - площадь крипт ДМ, мм²; 8 - площадь слизистой оболочки ДМ, мм²; 9 - площадь мышечной оболочки ДМ, мм²; 10 - площадь серозной оболочки ДМ, мм²; 11 - высота больших складок, мкм; 12 - ширина больших складок, мкм; 13 - высота средних складок, мкм; 14 - ширина средних складок, мкм; 15 - высота малых складок, мкм; 16 - ширина малых складок, мкм; 17 - площадь лимфоидной ткани, мм²; 18 - площадь диффузной лимфоидной ткани, мм²; 19 - количество лимфоидных узелков, мм²; 20 - площадь лимфоидных узелков, мм²; 21 - площадь первичных лимфоидных узелков, мм²; 22 - площадь вторичных лимфоидных узелков, мм²; 23 - количество лимфоцитов CD4+; 24 - количество лимфоцитов CD8+; 25 - количество лимфоцитов CD45RA+.

Литература. 1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия: руководство / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с. 2. Зубрицкий А. И. Корреляционный анализ микрометрических параметров легочного сердца при хронических заболеваниях легких / А. И. Зубрицкий // Архив патологии. – 1982. – № 8. С. 38–43. 3. Калиновська І. Г. Імунітотворення кишечнику курей в постнатальному періоді онтогенезу / І. Г. Калиновська // Проблемизооінженерії та ветеринарної медицини : зб. наук.працьХарківськоїдержавноїзооветеринарноїакадемії. – 2009. – Вип. 19, ч. 2, т. 2. – С. 42–48. 4. Кононский А. И. Гистохимия / А. И. Кононский. – К. :Вища школа, 1976.– 280 с. 5. Крок Г. С. Гистогенез подэпителиальной лимфоидной ткани пищеварительного тракта у некоторых высокопродуктивных линий кур / Г. С. Крок, Н. А. Мусиенко // Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных : научные труды Харьковского зооветеринарного института. – 1976. – Т. 227. – С. 122–129. 6. Купер Э. Сравнительная иммунология / Э. Купер ; пер. с англ. А. М. Оловникова. – М. : Мир, 1980. – 422 с. 7. Лимфоциты. Методы / под ред. Дж. Клауса ; пер. с англ. А. Н. Маца, А. А. Фельдшеровой. – М. : Мир, 1990. – 375 с. 8. Плохинский Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. – М. : Медицина, 1970.– 367 с. 9. Селезнев С. Б. Морфо-функциональные аспекты иммунной системы птиц / С. Б. Селезнев // Новые подходы в естественных исследованиях : экология, биология, с.-х. науки. – Саранск, 2001. – Вып. 1. – С. 28–30. 10. Селезнев С. Б. Структурная организация иммунной системы птиц и млекопитающих : лекционный курс / С. Б. Селезнев. – М. : РУДН, 1999. – 31 с. 11. Хомич В. Т. Топографія, макро- і мікроструктураклоакальної сумки курей / В. Т. Хомич, Т. А. Литвин // Ветеринарна медицина України. – 1998. – № 9. – С. 22–23. 12. Яглов В. В. Нерешённые проблемы нормальной и патологической морфологии диффузной эндокринной системы / В. В. Яглов, Н. В. Яглова // Архив патологии. – 2011. – № 5. – С. 58–62. 13. Dayal Y. Endocrine cells of the gut and their neoplasms / Y. Dayal // Pathology of the Colon, Small Intestine and Anus. – New York : Churchill Livingstone, 1983. – P. 267–300. 14. Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study / K. Sjölund, G. Sanden, R. Hakanson, F. Sundler // Gastroenterology. – 1983. – № 85. – P. 1120–1130. 15. Immunohistochemical study on the endocrine cells in the gastrointestinal tract of the ostrich / BerninGencerTarakci, Mine Yaman, Ali Bayrakdar, IhsanYaman // Medicine Wet. – 2008. – Vol. 64 (1). – P. 64–67. 16. Olah I. Meckel's diverticulum. II. A novel lymphoepithelial organ in the chicken / I. Olah, B. Glick, R.L.Jr. Taylor // Anatomikal Record. – 1984. – Feb; 208(2). – P. 253–263. 17. Singh I. A. A modification of the Masson-Hamperl method for staining of argentaffin cells / I. A. Singh // Anat. Anz.– 1964. –Vol. 115, № 1. – P. 81–82.

Статья передана в печать 26.03.2015 г.

УДК 599.323.4:612.35

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС В НОРМЕ

*Лебедева Е.И., *Мяделец О.Д., **Прудников В.С.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,
г. Витебск, Республика Беларусь,

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

Цель исследования – оценка морфофункциональной характеристики печени белых крыс в норме. Исследование выполнено на 24 крысах обоего пола. В статье представлены данные о качественном гистохимическом распределении гликогена, липидов, сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы.

The aim of the study was to evaluate the morphological and functional characteristics of the liver of normal white rats. The study was performed on 24 rats of both sexes. The article presents data on the qualitative histochemical distribution of glycogen, lipids, succinate dehydrogenase and cytochrome oxidase.

Ключевые слова: белые крысы, печень, гистохимические и гистозимнологические методы исследования.

Keywords : white rat liver, histochemical and histoenzymological methods.

Введение. Печень занимает центральное место в поддержании гомеостаза в организме. В ней синтезируются белки крови, фосфолипиды, холестерин, осуществляется биотрансформация ксенобиотиков, катаболизм гормонов и многие другие процессы [13]. Согласно современным представлениям, структурно-функциональной единицей печени является классическая доля. Наряду с представлениями о классической доле существуют понятия о печеночном ацинусе и портальной доле как об альтернативных структурно-функциональных элементах печени. Концепция печеночного ацинуса удачно отражает не только зональные функциональные различия гепатоцитов, касающиеся выработки ферментов и желчи, но и связь этих различий со степенью удаления гепатоцитов от осевых сосудов. Кроме того, эта концепция позволяет лучше понять многие патологические процессы в печени [10].

С помощью морфометрических и гистохимических методов давно показано, что гепатоциты, в зависимости от их локализации в пределах ацинуса существенно различаются по ультраструктуре, активности ферментов и чувствительности к гепатотропным ядам. Механизм этого явления остается до сих пор невыясненным [8, 12, 13].

Во всех гепатоцитах хорошо развит как гладкий, так и шероховатый эндоплазматический ретикулум (ЭР). У крыс наибольшая площадь гладкого ЭР выявлена в центролобулярных клетках (ЦЛК). Данные о распределении шероховатого ЭР весьма противоречивы. Так, в одних работах указывается, что наибольшее его количество обнаружено в ЦЛК [15]. Однако в других работах было показано, что наибольшее его содержание выявляется в перипортальных клетках (ППК) [17]. У человека наибольшая площадь гладкого ЭР выявлена в ЦЛ зонах, а шероховатого в ЭР– ПП зонах [13].

Количество митохондрий в ЦЛК печени крыс почти в 2 раза больше, чем в ППК. Однако у человека наибольшее количество этих органелл выявлено в ППК. Количество диктиосом комплекса Гольджи в гепатоцитах крыс, наоборот, в 2 раза больше в ППК, чем в ЦЛК. [14].

По данным автора [16], характер распределения пероксиом зависит от возраста животных. Так, у крыс в возрасте 6 и 10 месяцев количество этих органелл преобладает в перипортальной зоне, а в возрасте 16 месяцев и старше – в центрлобулярной зоне. У человека различий между зонами по количеству пероксиом не обнаружено.

Современные представления о распределении лизосом довольно противоречивы. У крыс наибольшее количество этих органелл одни авторы обнаружили в центрлобулярной зоне [15], а другие в – перипортальной зоне [16].

В нормальной печени животных и человека на полутонких и ультратонких срезах отчетливо видно подразделение гепатоцитов на светлые и темные клетки. Значение структурно-функциональной гетерогенности гепатоцитов в печеночной дольке оценивается неоднозначно. Наиболее распространенным является представление, согласно которому гетерогенность отражает особенности микроциркуляции в печеночной дольке. Предполагают также, что структурно-функциональная гетерогенность может отражать возрастные изменения гепатоцитов. Допускается существование генетически закрепленной специализации темных и светлых клеток для определенных функций. Такой наиболее вероятной функцией является обмен ксенобиотиков [12].

В печеночной клетке в зависимости от суточного ритма, функционального состояния и характера питания обнаруживаются в разных количествах включения гликогена, тогда как липиды практически не выявляются [12].

В изученной литературе за последние 15 лет практически отсутствуют данные о гистохимическом и гистоэнзимологическом исследовании печени у здоровых животных, а также их количественная и полная качественная оценка.

С учетом вышесказанного исследование морфофункциональной характеристики печени белых крыс в норме представляет значительный интерес. Целью настоящего исследования явилась оценка морфофункциональной характеристики печени белых крыс в норме.

Материал и методы исследования. Исследование выполнено на 24 здоровых половозрелых беспородных белых крысах обоего пола (12 самцов и 12 самок) массой 180-250г в осенне-зимний период. В работе использовали крыс одного возраста (90-100 дней), прошедших карантинный режим вивария и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Животных содержали в пластиково-металлических клетках с опилками, по 6 особей в каждой клетке, со свободным доступом к корму и воде, при естественном освещении и температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Животные получены из вивария Витебского государственного медицинского университета. На выполнение данного исследования получено разрешение этического комитета. Содержание животных соответствовало требованиям СанПиН 2.12.12-18.2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев), утвержденных постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь № 131 от 31.10.2006». Все исследования проводили согласно правилам лабораторной практики РБ (приложение к приказу Министерства Здравоохранения Республики Беларусь № 31 от 31.10.2006). Животных умерщвляли одномоментной гильотинной декапитацией. Морфологические и биохимические исследования выполнены в НИИПВМ и Б Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины.

Для морфологических исследований использовали следующие методы:

1. Общегистологические: окраска гематоксилином-эозином [11].
2. Специальные методы: выявление соединительной ткани по Маллори в собственной модификации [4].
3. Гистохимические методы: выявления гликогена по методу А.Л. Шабадаша [11], контроль с амилазой слюны в термостате при температуре 37°C в течение 30 мин; выявление нейтральных липидов смесью суданов III и IV в собственной модификации [5].

4. Гистоэнзимологические методы. В нефиксированных срезах печени толщиной около 10 мкм, приготовленных на микротоме-криостате HM525 (Германия) из замороженного в жидком азоте материала, изучали активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ; КФ 1.3.99.1) по методу Нахласа с нитро-СТ и цитохромоксидазы (ЦХО; КФ 1.9.3.1) по методу Берстона. Приготовление красителей, буферных растворов и окраску препаратов проводили в соответствии с прописями, приведенными в руководствах [7, 11]. При проведении гистоэнзимологических реакций для контроля специфичности гистохимического обнаружения ферментов ставили контроли: инактивация ферментов высокой температурой ($+80^\circ\text{C}$) и проведение реакций без субстратов. В обоих контролях в клетках, обладающих соответствующей ферментативной активностью, выявлялась отрицательная реакция.

Биохимические исследования выполняли на биохимическом автоматическом анализаторе EuroLyser (Австрия) с использованием стандартных диагностических наборов реактивов фирмы «Comau» (Польша) [6].

Изучение гистологических препаратов выполняли с помощью микроскопа OLYMPUS BX 51 со встроенной видеокамерой OLYMPUS XC 30 (Япония).

Статистический анализ полученных результатов проводили в табличном процессоре Microsoft Office Excel 2007 и STATISTIKA 6,1. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследований. Наблюдение за здоровыми животными выявило у них активное поведение: перемещение и «изыскание лучшего места в группе», «настороженно-ожидательную» позу при незначительных болевых и тактильных раздражителях с избеганием, резкие голосовые и оборонительные реакции, царапающие и кусательные движения, хорошее поедание корма и частые «моющие» движения лапками. Все животные имели густой, гладкий, блестящий, не загрязненный волосистой покров. Видимые слизистые были бледно-розового цвета. Все это свидетельствовало о хорошем физическом состоянии и полном здоровье животных.

Вскрытие показало отсутствие внешних патоморфологических изменений внутренних органов. Печень белых крыс имеет следующие доли: левую боковую (самая большая), левую внутреннюю, правую внутреннюю, правую боковую, хвостатую и добавочную. Ее масса составляет 4-6% массы животного. Белые крысы, в отличие от других грызунов, лишены желчного пузыря. Кроме того, у них имеются существенные особенности в

образовании желчи, обмене билирубина, процессах регенерации печени. Крысы способны регидроксилировать литохоловую кислоту в ди- и тригидроксижелчные кислоты, чего не наблюдается у людей [3].

Гистологическое исследование срезов печени крыс показало, что структура паренхимы соответствовала норме (рисунок 1). Она характеризовалась радиально расположенными трабекулами гепатоцитов вокруг центральных вен, четко выраженными границами портальных кровеносных сосудов и желчных протоков. Часто печеночные балки анастомозировали друг с другом, и на срезах не всегда удавалось проследить их ход с периферии до центральной вены.

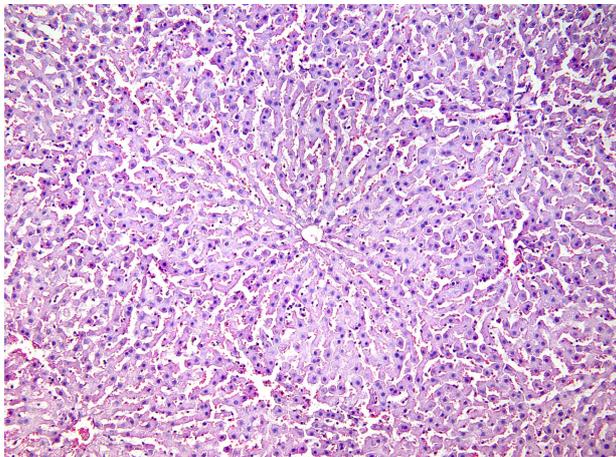


Рисунок 1 – Классические печеночные дольки у интактных белых крыс. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200

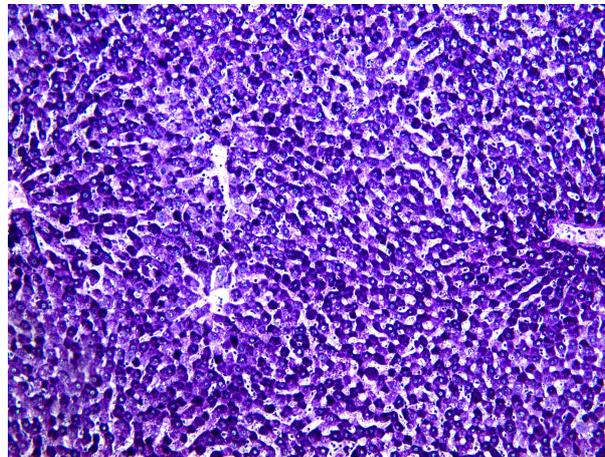


Рисунок 2 – Срез печени интактных животных. Гликоген окрашен в фиолетово-вишневый цвет. Окраска по методу Шабадаша. Ув. 200

Печень крыс покрыта тонкой соединительно-тканной глиссоновой капсулой, отдающей вглубь органа очень тонкие прослойки, которые разделяют ее на дольки. Эти прослойки выражены очень слабо и не выявляются. Границы печеночных долек определяются только по расположению междольковых сосудов и желчных протоков, которые формируют триады. Непосредственно под капсулой лежит один ряд гепатоцитов, образующих наружную терминальную пластинку [12].

К высокоинформативным методам изучения печени относятся гистохимические, в том числе гистоэнзимологические методы исследования. Одним из лабильных показателей функционального состояния печени является содержание в гепатоцитах гликогена. При оценке результатов исследования следует учитывать, что его содержание зависит от методов умерщвления животных, особенностей их пищеварительного рациона и фазы пищеварения [1].

Полученные в настоящей работе данные свидетельствуют о том, что у интактных животных гликоген в гепатоцитах выявлялся в виде зерен фиолетово-вишневого цвета, которые заполняли всю цитоплазму (рисунок 2). В части гепатоцитов он был распределен в виде сети.

Критериями неблагоприятного действия химических веществ на печень является появление липидных включений в цитоплазме гепатоцитов [1,2]. Результаты исследования показали, что у здоровых животных на криостатных срезах липидные включения практически не выявлялись (рисунок 3).



Рисунок 3 – Отсутствие липидов в клетках печени интактных животных. Окраска смесью суданов III и IV. Ув. 200

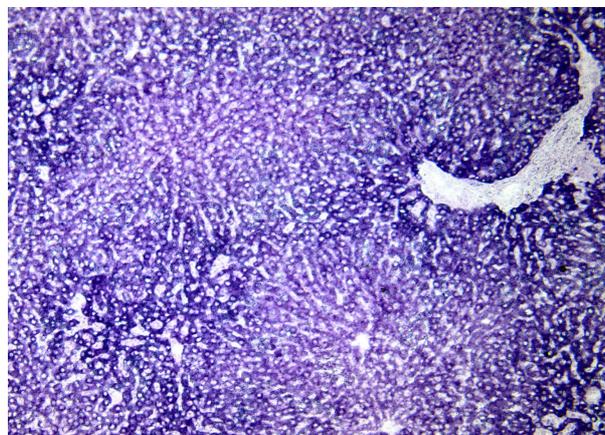


Рисунок 4 – Активность СДГ в клетках печени интактных животных. Окраска по Нахласу. Ув. 100

Весьма информативным критерием нарушения гомеостаза в организме является изменение активности ряда ферментов и в первую очередь окислительно-восстановительных [1]. При изучении гистохимической активности фермента внутренней мембраны митохондрий СДГ (один из важных ферментов энергетического обмена), у крыс на препаратах отчетливо выявлялась максимальная активность фермента в гепатоцитах периферических отделов печеночных долек и вокруг сосудов. В то же время в центральных отделах дольки активность СДГ была значительно ниже, что подтверждает представления о структурно-функциональной гетерогенности гепатоцитов в печеночных дольках (рисунок 4).

Активность фермента цитохромоксидазы в печени интактных крыс была в основном равномерно распределена по цитоплазме гепатоцитов. Фермент выявлялся в виде мелких зерен коричневого цвета. Иногда на срезах встречались единичные клетки с более интенсивной окраской зерен. Редко обнаруживались также гепатоциты с участками цитоплазмы, в которых активность фермента была значительно ниже, чем в остальных участках (рисунок 5).

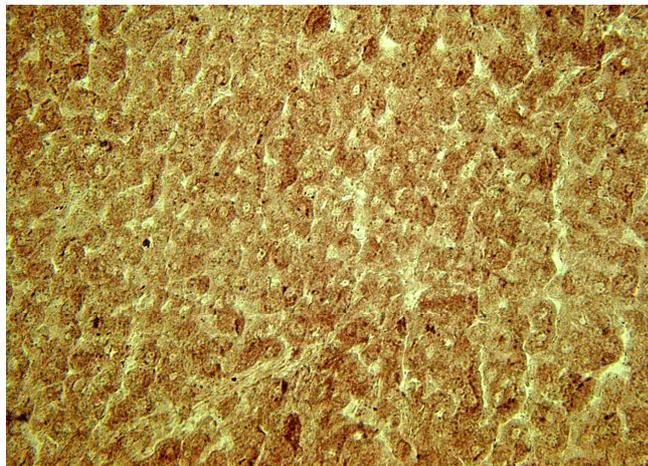


Рисунок 5 – Активность ЦХО в клетках печени интактных животных. Окраска по Берстону. Ув. 400

Биохимические данные сыворотки крови интактных белых крыс приведены в статье [6].

Заключение. Таким образом, настоящее исследование позволило выявить следующие признаки, характеризующие печень интактных крыс. Во-первых, в гепатоцитах практически полностью отсутствуют липиды. Это связано с тем, что образующиеся в печени в условиях нормы триацилглицеролы не накапливаются в ней, а сразу же транспортируются из нее в составе липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП). При затруднении удаления жира из печени вследствие снижения синтеза или секреции ЛПОНП возникает условия для развития жирового гепатоза [9].

Во-вторых, практически во всех гепатоцитах обнаружено максимальное содержание гликогена.

В-третьих, установлена гетерогенность распределения фермента внутренней мембраны митохондрий сукцинатдегидрогеназы. Вместе с тем, при гистохимическом изучении активности цитохромоксидазы гетерогенность распределения не выявлена.

Литература. 1. Бонашевская, Т.И. Морфофункциональные исследования в гигиене / Т.И. Бонашевская. – М: Медицина, 1984. – 160 с. 2. Высоцкий, И.Ю. Суточные ритмы гепатотоксичности четыреххлористого углерода в условиях искусственной смены светового синхронизатора / И.Ю. Высоцкий [и др.] // Журнал клинических экспериментальных медицинских исследований. – 2013. – Т. 1, №2. – С.131-135. 3. Западнюк, И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк. – Киев: Вища школа, 1983. – 382 с. 4. Лебедева, Е.И. Модификация метода окрашивания соединительной ткани в печени при ее фиброзах / Е.И. Лебедева // «Инновации в медицине и фармации – 2014»: материалы дистанционной науч.-практ. конф., БГМУ, Минск, 2014. / Белорус. гос. мед. ун-т; редкол.: А.В. Сикорский [и др.]. – Минск, 2014. – С.389-394. 5. Лебедева Е.И. Модификация гистохимического метода окрашивания липидов в паренхиме печени / Е.И. Лебедева // Минский консилиум – 2014: сборник материалов республиканской конференции молодых ученых с международным участием, Минск, 10-11 июня 2014, ред коллегия Ю.Е. Демидчика [и др.] – Минск: БелМАПО. – 2014. – С.143-145. 6. Лебедева Е.И. Половые биохимические различия сыворотки крови у белых крыс при экспериментальном циррозе / Е.И. Лебедева // Новости медико-биологических наук. – 2014. – Т. 10, №4. – С. 165–170. 7. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли. – М: Мир, 1969. – 645 с. 8. Малинин, М.Н. Половые различия по биохимическим показателям крови у разных видов лабораторных животных / М.Н. Малинин // Известия Саратовского университета. – 2008. – Т.8, Сер. Химия. Биология. Экология, вып. 1. – С. 51-54. 9. Мари, Р. Биохимия человека / Р. Мари, Д. Греннер, П. Мейес и др. – М.: Мир, 1993. – Т. 1. – С. 260-267. 10. Пальцев, М.А. Патологическая анатомия / М.А. Пальцев, Н.М. Аничков. – М: Медицина, 2001. – 736 с. 11. Роскин, Г.И. Микроскопическая техника / Г.И. Роскин. – М: Советская наука, 1951. – 447 с. 12. Серов, В.В. Морфологическая диагностика заболеваний печени / В.В. Серов. – М: Медицина, 1989. – 336 с. 13. Усынин И.Ф. Адаптивная роль функциональной гетерогенности гепатоцитов / И.Ф. Усынин // Бюллетень СО РАМН. – 2007. – №2 (127). – С.131-135. 14. Ferri D. Ultrastructural zonal heterogeneity of hepatocytes and mitochondria within the hepatic acinus during liver regeneration after partial hepatectomy / D. Ferri [et al] // J. Biol. Cell. – 2005. – Vol. 97. – P. 277-288. 15. Hailfinger, S. Zonal gene expression in murine liver lesson from tumors / S. Hailfinger [et al] // Hepatology. – 2006. – Vol. 43. – P. 407-414. 16. Lindauer, M. Zonal heterogeneity of peroxisomal enzymes in rat liver differential induction by three divergent hypolipidemic drugs / M. Lindauer [et al] // Hepatology. – 1994. – Vol. 20. – P. 475-486. 17. Meihuizen, S.P. Stereological analysis of liver parenchymal cells from young and old rats / S.P. Meihuizen [et al] // Mech. Ageing. Dev. – 1980. – Vol. 13. – P. 111-118.

Статья передана в печать 05.04.2015 г.

УДК 577.1:[616.36-004:599.323.4]

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ТОКСИЧЕСКОГО ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ У БЕЛЫХ КРЫС***Лебедева Е.И., **Прудников В.С., *Мяделец О.Д.***УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,
г. Витебск, Республика Беларусь,** УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

В эксперименте получена модель токсического цирроза печени путем интрагастрального введения четыреххлористого углерода и этанола методом свободного выпаивания. Стандартизацию модели осуществляли в ходе морфологических и биохимических исследований. Выявлены особенности данной модели с учетом пола животных.

The model of a toxic liver cirrhosis was obtained in the experiment by intragastric administration of carbon tetrachloride and ethanol by free watering. Standardization of model was performed in the morphological and biochemical studies. The features of this model considering sex of the animals were detected.

Ключевые слова: экспериментальная модель, цирроз печени, белые крысы, четыреххлористый углерод, этанол.

Keywords: experimental model, cirrhosis, white rats, carbon tetrachloride, ethanol.

Введение. По мере формирования производственного фармацевтического сектора усиливается интерес к разработке и испытанию лекарственных средств. В связи с этим особую актуальность приобретают исследования по созданию экспериментальных моделей патологических процессов, которые по своим проявлениям, реакциям клеточных популяций и биохимическому статусу в значительной степени соответствовали бы протеканию заболеваний у человека. Важность создания моделей *in vivo* для скрининга лекарственных препаратов определяется необходимостью выявления эффектов лекарств в естественных условиях существования системного кровотока, сохранности микроциркуляторного русла, иннервации, а главное – функционирующих гематопаренхиматозных барьеров, воспроизведение которых в полной мере невозможно в органных и тканевых культурах *in vitro* [8].

В настоящее время количество экспериментальных моделей поражения печени так велико, что их практически невозможно перечислить [2, 7, 14, и многие другие].

Отсутствие стандартизованных воспроизводимых экспериментальных моделей существенно затрудняет сравнительную оценку результатов многочисленных исследований эффективности лекарственных средств, а в ряде случаев ставит под сомнение прогноз достижения целевого эффекта у человека [1]. Моделирование цирроза печени на крысах представляет собой непростую задачу, решение которой во много раз определяет возможность комплексной оценки гепатопротективных средств и побочных эффектов лекарственных препаратов. Можно утверждать, что в настоящее время модель цирроза печени, вызванная четыреххлористым углеродом (тетрахлорметаном, CCl_4), является наиболее распространенной [9, 10, 11, 12, 15, 16, 17]. К сожалению, для моделирования цирроза достаточно часто применяются различные варианты введения CCl_4 : подкожно [10], интрагастрально [12], интраперитонеально [17] 1-3 раза в неделю. При этом доза колеблется от 0,05 до 0,30 мл/кг или ингаляционно [15]. При введении CCl_4 растворяют в минеральном или оливковом масле [13]. Длительность введения может значительно колебаться – от 9 до 30 недель [11, 12, 13]. Как следствие, степень патологических изменений в печени, достигаемая в подобных экспериментах, может сильно варьировать, тем самым значительно осложняя сравнение данных, получаемых разными авторами. Применение различных вариантов эксперимента приводит к формированию портального фиброза и редко сопровождается истинными цирротическими изменениями гистоархитектоники печени с формированием соединительно-тканых септ, ограничивающих псевдодольки [8]. В связи с этим результаты исследований противцирротической эффективности препаратов, выполненных на таких моделях, зачастую без должного гистологического контроля, следует признать несостоятельными [1, 8]. Большинство авторов не уделяет внимания динамике морфологических изменений печени и не учитывает гендерные различия. Более существенные нарушения функции печени удается получить при комбинированном введении CCl_4 и этанола. Механизм повреждения паренхимы печени при этом аналогичен, однако степень и глубина повреждения клеток повышается вследствие синергизма этих веществ. В моделировании цирроза во избежание регенерации важно, чтобы между приемами яда не было продолжительных перерывов [4]. В связи с этим цель настоящего исследования состояла в отработке экспериментальной модели токсического цирроза печени у белых крыс для оценки эффективности лекарственных средств.

Материал и методы исследования. Экспериментальная часть работы была выполнена на базе НИЛ Витебского государственного медицинского университета. Биохимические и морфологические исследования выполнены в НИИПВМ и Б Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины. Формирование цирроза печени и отработка методики выполнена на 164 половозрелых беспородных белых крысах обоего пола массой 180-250г в осенне-зимний период, причем 50 животных использовали в отработке методики, а 24 служили контролем. Животные были разделены на группы: 6 опытных (n=12, 6 самцов и 6 самок) и контрольная (n=24, 12 самцов и 12 самок). Для характеристики протекания патологического процесса группы животных выводили из опыта через 3, 6, 9, 12, 16, 19 нед эксперимента.

В опытах использовали белых крыс одного возраста, прошедших карантинный режим вивария и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. В параллельно исследуемых группах животные имели

одинаковую массу тела. Животных содержали в пластиково-металлических клетках с опилками, по 6 особей в каждой клетке, при естественном освещении, со свободным доступом к корму и воде. Чтобы избежать влияния суточных биоритмов, все исследования проводили в одно и то же время суток. Экспериментальная часть работы проведена согласно правилам лабораторной практики РБ (приложение к приказу Министерства Здравоохранения Республики Беларусь № 31 от 31.10.2006) и международным рекомендациям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов в научных и иных целях (г. Странбург, 1986).

Токсический цирроз печени вызывали путем хронической интоксикации белых крыс органическим гепатотропным ядом – CCl_4 . За основу была принята модель внутрижелудочной затравки 50%-ным масляным раствором 3 раза в неделю в дозе 0,3 мл/100г массы животного [4]. Однако применение данной методики в предложенном режиме оказалось невозможным ввиду массовой гибели животных от острой печеночной недостаточности. Поэтому использовали отработанную опытным путем методику интрагастрального введения с помощью зонда 40%-го масляного раствора CCl_4 в дозе 0,2 мл/100г массы животного два раза в неделю, в утренние часы за 4 часа до кормления в течение 19 недель. Параллельно с этим вместо воды в качестве питья крысы получали 5%-ный раствор этанола из поилок в режиме свободного доступа на протяжении всего опыта. Контрольные (плацебо) животные получали эквивалентное количество растворителя CCl_4 (оливковое масло) и в качестве питья использовали кипяченую воду из поилок в режиме свободного доступа. Интактные животные – крысы тех же возрастов и массы, что и экспериментальные

Особое внимание уделяли показателям, характеризующим протекание патологических процессов и возможности применения отработанной модели для оценки эффективности лекарственных препаратов. Для этого проводили регулярное наблюдение за животными, во время которого отмечали потребление корма и воды, изменения внешних признаков (волосного покрова, видимых слизистых оболочек), особенности поведения, а также осуществляли еженедельное взвешивание. Вывод животных из опыта осуществляли одномоментной гильотинной декапитацией с отбором крови для биохимического исследования, проведением комплекса гистологических и гистохимических исследований печени, а также биометрических показателей (масса тела, относительная и абсолютная масса печени).

Для выявления общих гистологических и фибропластических изменений срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по Массону. Для проведения гистохимических исследований криостатные срезы окрашивали смесью суданов III и IV с целью выявления нейтральных жиров. Изучение гистологических препаратов выполняли с помощью микроскопа OLYMPUS BX 51 со встроенной видеокамерой OLYMPUS XC 30 (Япония). Биохимические исследования выполняли на биохимическом автоматическом анализаторе EuroLyser (Австрия) с использованием стандартных диагностических наборов реактивов фирмы «Cotman» (Польша) [3].

Статистический анализ полученных результатов проводили в табличном процессоре Microsoft Office Excel 2007 и STATISTIKA 6.1. Определяли средние значения и стандартные отклонения. Учитывали малую выборку животных, неправильное распределение исследуемых признаков, а также неравенство дисперсий. Для статистической обработки полученных результатов, был использован непараметрический U-критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследований. В ходе эксперимента у подопытных животных отмечалась желтушность шерстного и кожного покрова в области шеи, туловища, хвоста и дистальных отделов конечностей. При введении каждой очередной дозы CCl_4 спустя несколько мин наблюдали их возбуждение, выражавшееся в беспокойстве, резких движениях передних конечностей, попытке зарывания в подстилку и вытягивание тела. Эти изменения исчезали примерно через один час.

К концу эксперимента клиническая картина подопытных белых крыс характеризовалась следующими изменениями: бледностью конъюнктивы, снижением двигательной активности, заторможенностью, дряблостью скелетных мышц, выраженной желтушностью хвоста и потерей его упругости, тусклой окраской, взъерошенностью и загрязненностью шерстного покрова, обширными участками облысения в области брюшной стенки, потерей аппетита и отказом от приема корма. Животные с трудом находили пищу, что может быть связано либо с нарушением зрения, либо обоняния, либо двигательной реакцией, либо совокупностью этих процессов. Животные слабо реагировали на прикосновение и другие манипуляции. Отмечалась замедленная рефлекторная реакция на звуковые раздражители. Описанные выше клинические признаки наиболее выражено проявлялись у самцов, и их смертность в 2 раза достоверно превысила смертность самок во время эксперимента (рисунок 1). У контрольных и экспериментальных животных был выявлен достоверный одинаковый прирост массы тела в 1, 2 раза как у самцов, так и у самок.

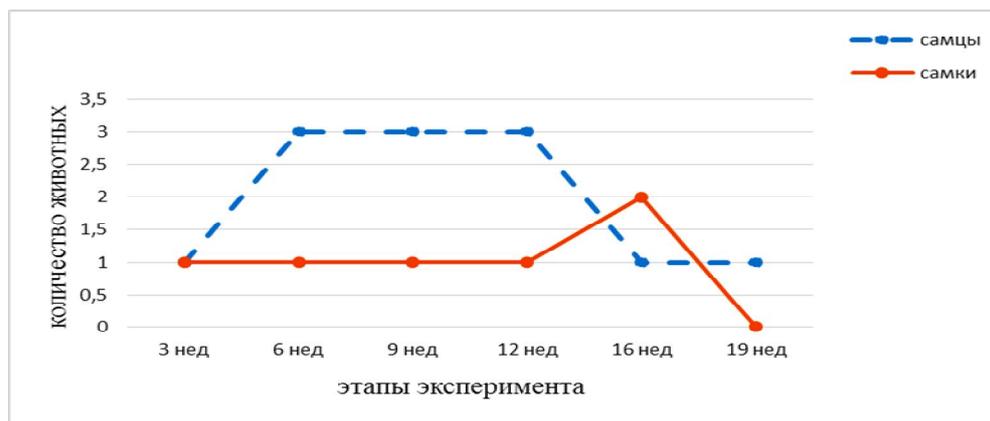


Рисунок 1 – Динамика смертности животных во время эксперимента

Выраженная патология была отмечена у экспериментальных животных при заборе материала: обнаружены плотная и бугристо-узловатая поверхность печени красновато-желтой окраски, спленомегалия, увеличение и зернистая дистрофия почек, серозный лимфаденит портальных и брыжеечных лимфоузлов, зернистая дистрофия миокарда, метеоризм желудка и кишечника.

У отдельных животных через 16 и 19 нед развивался асцит. Объем жидкости светло-желтого цвета в брюшной полости составлял 10% -12% от массы тела. При вскрытии у них отмечалось наличие крови алого цвета с пониженной свертываемостью. Содержание альбумина в сыворотке крови таких животных было достоверно резко снижена по сравнению с контролем и животными с циррозом без асцита. Развитие асцита у отдельных экспериментальных животных нельзя считать случайностью. Его наличие у отдельных животных свидетельствует о возможности моделирования данного состояния у белых крыс. Патогенез асцита при циррозе сложен и не полностью установлен. За его развитие признается ответственным ряд факторов: портальный блок, гипоальбуминемия, нарушения системной гемодинамики [5].

Исследование печени контрольных крыс и животных с экспериментальным циррозом показало, что относительная масса печени подопытных животных достоверно увеличивалась по сравнению с группой контроля: у самцов в 1,7 раза, а у самок – в 1,4 раза (рисунок 2). Увеличение массового коэффициента печени свидетельствует о гемодинамических нарушениях в этом органе.

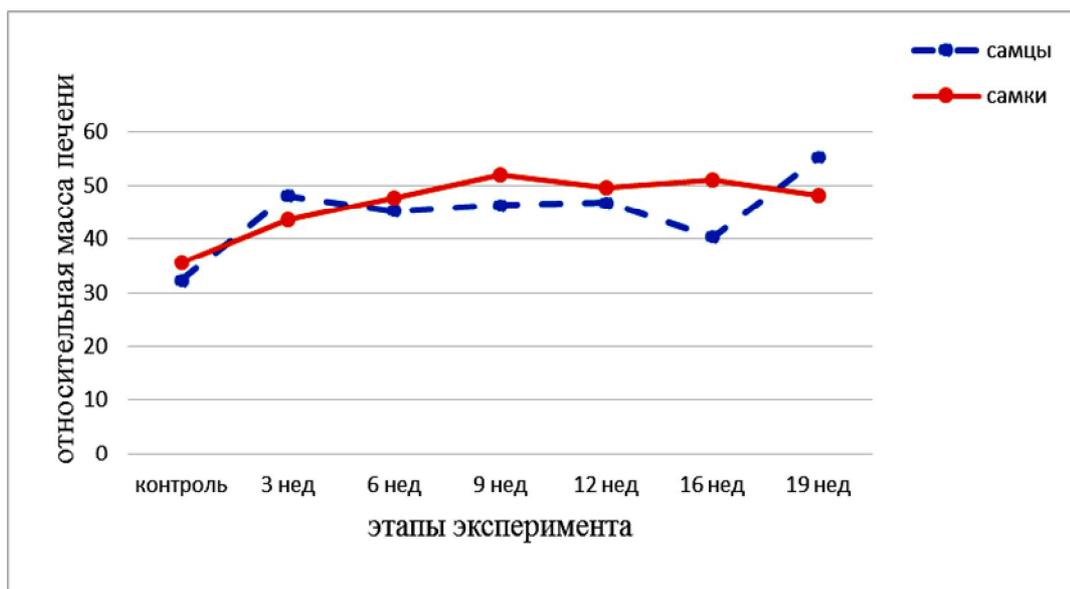


Рисунок 2 – Динамика изменения относительной массы печени у животных во время эксперимента

Гистологическая картина печени животных контрольной группы в целом соответствовала критериям нормы.

Гистологический анализ органа подопытных крыс показал развитие хронического патологического процесса в динамике, основными проявлениями которого являлся цирроз печени. В гепатоцитах определяли глыбчатую агрегацию матрикса, соответствующую картине зернистой дистрофии. В этих же клетках выявляли мелкие и средней величины вакуоли с ровными контурами (рисунок 3). При окраске суданом эти вакуоли интенсивно окрашивались в желтый, оранжевый, оранжево-желтый, оранжево-красный и красный цвета.

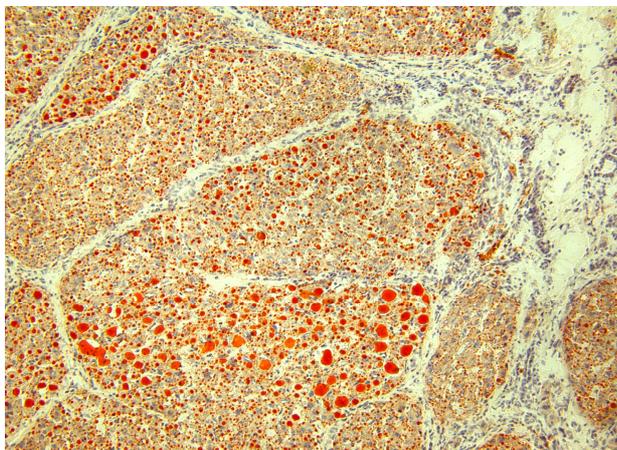


Рисунок 3 – Срез печени животных через 19 нед эксперимента. Окраска смесью суданов III и IV. Ув. 200

В ряде клеток наблюдали крупные жировые вакуоли. При разрушении этих клеток свободнолежащие капли жира определялись в межклеточном пространстве. Микроскопическая картина печени характеризовалась также потерей балочной структуры паренхимы, интенсивным разрастанием

соединительной ткани вокруг портальных трактов, узловой трансформацией паренхимы с формированием ложных долек, разделенных между собой фиброзными тяжами (рисунок 4).

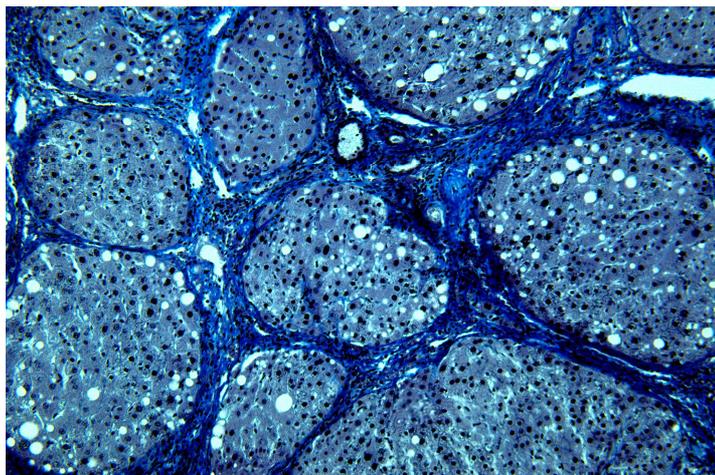


Рисунок 4 – Срез печени животных через 19 нед эксперимента. Окраска по методу Массона. Ув. 200

Наблюдалось расширение и кровенаполнение как портальных сосудов так и синусоидных капилляров, а также сдвиг эритроцитов и лейкостаз. На протяжении всего эксперимента выявлялась активизация новообразования кровеносных сосудов. Повышение портосистемного градиента является пусковым фактором как артериального, так и венозного ангиогенеза. Гипоперфузия синусоидов – второй важный фактор инициации ангиогенеза. На начальных этапах развития портальной гипертензии ангиогенез может рассматриваться как компенсаторная реакция. В дальнейшем этот процесс участвует в прогрессировании портальной гипертензии. Восстановление структуры и функции печени при ее поражениях возможно только при адекватном кровоснабжении органа. Стимуляция ангиогенеза и оксигенации печени являются важнейшими задачами гепатологии [6]. Дальнейшее изучение ангиогенеза в эксперименте позволит существенно расширить лечебные возможности заболеваний печени.

Наряду с дистрофией, некрозом, фибропластическими процессами и перестройкой печеночных долек наблюдались признаки регенераторной активности. Она выражалась в утолщении терминальной пластинки, наличии небольшого количества двуядерных и крупноядерных клеток. Несмотря на непрекращающееся прогрессирование патологического процесса в печени, интенсивная регенерация исчезала только к концу эксперимента (19 нед). Это подтверждает тот факт, что введение CCL_4 и этанола методом свободного выпайвания вызывает как повреждение печени, так и стимуляцию регенераторных процессов. В паренхиме печени выявлялась также компенсаторно-приспособительная пролиферация междольковых желчных протоков. Часто возле этих протоков определялись лимфо-гистиоцитарные пролифераты.

При изучении биохимических показателей сыворотки крови животных с циррозом печени, описанных в предыдущей работе [3], выявлены гиперферментемия, гипогликемия, гипоальбуминемия, гиперурикемия, гиперлипидемия, гипербилирубинемия, а также снижение уровня мочевины и увеличение уровня креатинина. Показаны достоверные половые отличия по большинству биохимических показателей сыворотки крови контрольных и экспериментальных животных.

Заключение. Стандартизация и дальнейшее изучения экспериментальной патологии печени позволит унифицировать сравнение эффективности лекарственных препаратов. Данная экспериментальная модель может быть использована при доклиническом исследовании, а также в научно-исследовательских целях.

Литература. 1. Арутюнян И.В. Моделирование цирроза печени на лабораторных животных / И.В. Арутюнян, А.В. Макаров, Т.Х. Фатхудинов, Г.Б. Большакова // Клиническая экспериментальная морфология. – 2012. – №2. – С. 45–50. 2. Кедровская Н.А. Иммуномодулирующие и гепатопротективные эффекты различных лекарственных форм фосфолива в условиях индометацинового токсического поражения печени / Н.А. Кедровская, О.В. Белоконова // Курский научно-практический вестник "Человек и здоровье". – 2009. – №4. – С. 5–10. 3. Лебедева Е.И. Половые биохимические различия сыворотки крови у белых крыс при экспериментальном циррозе / Е.И. Лебедева // Новости медико-биологических наук. – 2014. – Т. 10, №4. – С. 165–170 4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Ч. 1. М: Гриф и К, 2012. – 944 с. 5. Силивончик, Н.Н. Лечение осложнений цирроза печени: метод. пособие / Н.Н. Силивончик. – Минск: Изд-во БГМУ, 2000. – 44 с. 6. Слета И.В. Микрогемоциркуляция печени при различных способах лечения экспериментального цирроза / И.В. Слета [и др.] // Проблемы криобиологии. – 2008. – Т. 18, №2. – С. 242. 7. Толстикова Т.Г. Биохимические показатели крови и количество гепатоцитов в печени крыс с токсическим гепатитом при действии аланинамида бетулоновой кислоты / Т.Г. Толстикова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – №5. – С. 120–123. 8. Чепур С.В. Особенности экспериментального моделирования соматических и неврологических заболеваний для оценки эффективности лекарственных препаратов / С.В. Чепур [и др.] // Биомедицина. – 2012. – №1. – С. 16–28. 9. Ahmed S. K. Role of bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of CCL_4 induced liver fibrosis in albino rats: a histological and immunohistochemical study / S. K. Ahmed [et al.] // International Journal of Stem Cells. – 2014. – Vol. 7, No. 2. – P. 87-97. 10. Domenicali M. A novel model of CCL_4 -induced cirrhosis with ascites in the mouse / M. Domenicali [et al.] // J. Hepatol. – 2009. – Vol. 51, N.6. – P. 991-9. 11. Dongmei Qin Effect of cichorium glandulosum extracts on CCL_4 -induced hepatic fibrosis/ Qin Dongmei [et al.] // Iran Red Crescent Med J. – 2013. – Vol. 15, N.12. – P. 1-8. 12. Goldani H.A. The role of food restriction on CCL_4 -induced cirrhosis model in rats / H.A. Goldani [et al.] // Exp Toxicol Pathol. – 2007. – Vol. 58, N.5. – P. 331-7. 13. Lessa A.S. Ultrasound imaging in an experimental model of fatty liver disease and cirrhosis in rats / A.S. Lessa [et al.] // BMSVetRes. – 2010. – Vol. 6, N.6. – P. 6-13. 14. Olaleye M. T. Protective effects of parinari curatellifolia flavonoids against acetaminophen-induced hepatic necrosis in rats / M. T. Olaleye // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2014. – N.21. – P. 486-492. 15. Vasina V. Portal hypertension and liver cirrhosis in

rats effect of the β_3 -adrenoceptor agonist SR58611A / V. Vasina [et al.] // *British Journal of Pharmacology*. – 2012. – N.167. – P. 1137-1147. 16. Wenting Li *Mest attenuates CCL₄-induced liver fibrosis in rats by inhibiting the Wnt/ β -catenin signaling pathway / Li Wenting [et al.] // *Gut and Liver*. – 2014. – Vol. 8, N.3. – P. 282-291. 17. Zhang J.J. *Development of a new animal model of liver cirrhosis in swine / J.J. Zhang [et al.] // EurSung Res*. – 2009. – Vol. 42, N.1. – P. 35-9.*

Статья передана в печать 16.04.2015 г.

УДК 602.9:611.018.46:636.1:612.017

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ЛОШАДИ НА РАННИХ ПАССАЖАХ INVITRO

*Малюк Н.А., **Безденежных Н.А., **Адаменко И.Н.

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина,

**Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев, Украина

Проведенные иммуноцитохимические исследования подтверждают, что мезенхимальные стволовые клетки костного мозга лошади во время культивирования invitro на втором пассаже являются гетерогенными. Они экспрессируют маркеры мезенхимальных, эпителиальных и гемопоэтических клеток, тогда как на пятом пассаже культура клеток является иммунофенотипически гомогенной фракцией и экспрессирует маркеры мезенхимального происхождения.

Immunocytochemical studies confirm that mesenchymal stem cells of horse bone marrow during cultivation invitro at the second passage are heterogeneous, they express markers of mesenchymal, epithelial and hematopoietic cells, whereas at the fifth passage cell culture becomes immunophenotypic homogeneous, that express markers of mesenchymal origin.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, моноклональные антитела, иммуноцитохимический анализ, E-кадгерин, N-кадгерин, актин, виментин.

Keywords: mesenchymal stem cells, monoclonal antibodies, immunocytochemical analysis, E-cadherin, N-cadherin, actin, vimentin.

Введение. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) находят все более широкое применение в разных областях биологии, гуманной и ветеринарной медицины благодаря их высокой способности дифференцироваться в разные типы клеток и низкой иммуногенности. Известно, что МСК присутствуют во многих органах и тканях взрослого организма: костном мозге (КМ), коже, жировой и мышечной ткани. Тем не менее, в качестве “золотого стандарта” при изучении биологических свойств данного типа клеток является костный мозг.

Анализ фенотипа в последние годы широко используется для идентификации и выделения разных клеточных популяций. Этот метод основан на выявлении специфических мембранных молекул с помощью моноклональных антител. В данный момент учеными описано много мембранных антигенов, которые характеризуют соответственные стадии дифференцировки клеток в том или другом направлении. Выявление экспрессии этих поверхностных маркеров является очень перспективным и продуктивным подходом в исследовании стволовых и прогениторных клеток.

О принадлежности клеток к этой категории надо оценивать исходя из наличия нескольких поверхностных антигенов, потому что обнаружить один универсальный маркер, который позволяет четко идентифицировать популяцию МСК, не возможно. МСК человека, например, после экспансии должны быть позитивными на CD105, CD73, CD90. Одновременно МСК не должны экспрессировать CD45, CD14, CD11b, CD79a и CD11[5].

Вышеописанный профиль экспрессии поверхностных молекул представляет лишь минимальные критерии к антигенному фенотипу МСК. На их поверхности присутствуют и много других антигенных маркеров, таких как CD49c, CD51, CD54, CD59, CD 71 и CD166.

Возможно, в дальнейшем на поверхности МСК будут обнаружены и другие специфические молекулы, которые будут пригодны для использования в качестве антигенных маркеров, что приведет к уточнению данного критерия [6, 7, 8].

Детальная характеристика антигенного профиля усложняется теми обстоятельствами, что набор экспрессирующих молекул не одинаков у разных клонов МСК и меняется в процессе культивирования, даже если эти клоны сходны морфологически своими потенциями.

Следует знать, что при иммунофенотипическом анализе МСК лабораторных животных, их CD-рецепторный аппарат отличается от рекомендованного для клеток человека, а протоколов исследований по изучению иммуноферментного профиля лошадей на разных пассажах культивирования в доступных литературных источниках не обнаружено.

Таким образом, изучение иммунофенотипического профиля мультипотентных стволовых клеток лошадей имеет как теоретическое, так и практическое значение. При этом, изучение CD рецепторов мезенхимальных стволовых клеток костного мозга лошадей во время культивирования *in vitro* на ранних пассажах является актуальным заданием для характеристики клеточной культуры.

Цель исследования – изучить экспрессию ядерных и цитоплазматических специфических белков мезенхимальных стволовых клеток костного мозгалощадей на разных пассажах с помощью иммуноцитохимического анализа.

Материал и методы исследований. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) выделяли из костного мозга (КМ) лошади. Выделенную клеточную массу культивировали в стандартной среде: DMEM – 80 %, сыворотка эмбрионов телят – 20 % (“Sigma”, США) с добавлением 10 мкл/см³ среды антибиотика-антимикотика. Культивирование проводили в CO₂-инкубаторе при t 37 °С и 5 % концентрации CO₂. При этом МСК оседали, прикреплялись ко дну чашек Петри и распластывались. Суспензионную культуру кроветворных клеток удаляли, после чего продолжали культивировать клетки с адгезивными свойствами. С целью получения суспензии клеток использовали 0,5% раствор трипсина и 0,2% ЕДТА [1, 2]. Микроскопический анализ культуры проводили с помощью инвертированного микроскопа Axiovert 40 (Карл Цейс).

Для проведения иммуноцитохимического анализа исследуемые клетки выращивали на покровных стеклах 48 – 72 часа (при условии 50 – 70 % монослоя). Фиксировали клетки в растворе метанола и ацетона в соотношении 1:1 в течение 2 часов при t -20 °С, после чего инкубировали их с 1 % раствором бычьего сывороточного альбумина (BSA). Для выявления специфических маркеров наносили на фиксированные клетки МКАт (anti: PCNA (clone PC-10, NeoMarkers), Ki-67 (clone RB-9043-PO, Neomarkers), CD44 (clone 156-3C11, DiagnosticBioSystems), PanMuscleActin (clone 1a45C5, DiagnosticBioSystems), E-cadherin (cloneSPM 471, ThermoScientific), N-cadherin (clon CD325, ThermoScientific), виментин (V9, DiagnosticBioSystems), CD24 (SN3b, NeoMarkers) на 30–60 минут (согласно инструкции производителя). После этого использовали систему визуализации PolyVue (ThermoScientific), конъюгированную с пероксидазой, выявляли активность фермента с использованием в качестве субстрата диаминобензидин (ThermoScientific). После проведения иммуноцитохимической реакции препараты промывали водой и докрашивали HematoxylinSolutionaccordingtoMayer (Sigma) (15–30 с), после чего их заключали в FaramountAqueousMountingMedium. Анализ результатов проводили по количеству «положительных» клеток с экспрессией (коричневый цвет) и оценивали с использованием классического метода H-Score: S=1xA+ 2xB + 3xC, где S – показатель «H-Score», значение которого находится в пределах от 0 (белок не экспрессируется) до 300 (сильная экспрессия в 100 % клеток); А – процент слабо «окрашенных» клеток; В – процент умеренно «окрашенных» клеток; С – процент сильно «окрашенных» клеток.

Результаты исследований. Во время культивирования мезенхимальных стволовых клеток костного мозга коня было установлено, что на II пассаже клетки были морфологически гетерогенные, между доминирующих веретенообразных клеток встречались клетки кубической и овальной формы, тогда как на V пассаже культивированные клетки приобретали гомогенную веретенообразную морфологию.

Проведенные иммуноцитохимические исследования CD-рецепторного аппарата стволовых клеток костного мозга лошади на ранних пассажах свидетельствуют, что набор специфических белков существенно отличается у разных клонов культивирующих клеток и меняется в процессе культивирования.

Таблица 1 - Иммунофенотипический профиль мезенхимальных стволовых клеток костного мозга лошади на ранних пассажах (M±m, n=3)

Исследуемый антиген	Пассаж клеток из костного мозга лошади <i>in vitro</i>	
	II	V
	Оценка в баллах по методу H-Score (от 0 до 300)	
	Ядерные белки (связанные с пролиферацией и клеточным циклом)	
PCNA	0	242±22
Ki-67	142±11	0
Белки клеточной адгезии и цитоскелета		
Виментин	229±21	274±11*
Актин	128±11	221±27**
Е-кадгерин	138±12	0
Н-кадгерин	109±18	0
CD24	94±6	0
CD44	46±9	0

Примечание: * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001

Данные относительно иммунофенотипического профиля мезенхимальных СК костного мозга лошади на втором и пятом пассаже приведены в таблице 1 и рисунках 1- 4.

Во время проведения иммунофенотипической характеристики мезенхимальных стволовых клеток костного мозга коня, особое внимание уделяли ядерным белкам, которые связаны с пролиферацией и клеточным циклом.

С помощью иммуноцитохимического анализа нами было установлено, что количество PCNA-положительных (proliferativecellnuclearantigen) клеток лошади на II и V пассажах существенно отличалось (таблица 1, рисунок 1). Так, на втором пассаже PCNA-положительных клеток не выявлено, тогда как на пятом пассаже происходило увеличение уровня экспрессии этого белка до 242 баллов. Следует отметить, что экспрессия еще одного белка, который характеризует пролиферативный потенциал клеток – Ki-67 на втором

пассаже была умеренная и составляла 142 балла, тогда как на пятом пассаже положительных клеток относительно этого белка не выявлено.

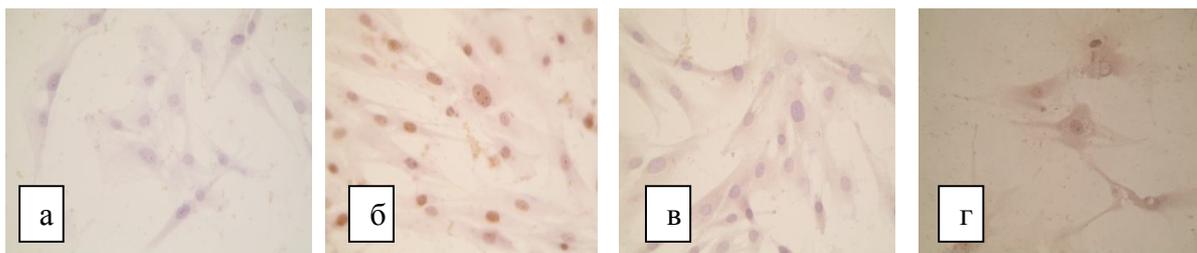


Рисунок 1 –Иммунофенотипическая характеристика мезенхимальных стволовых клеток костного мозга лошади: а – контроль, б – PCNA-положительные клетки; в – Ki-67-отрицательные клетки (V пас.); г – Ki-67-положительные клетки (II пас.), x 400

Вероятно, костный мозг лошадей содержит несколько клонов мезенхимальных стволовых клеток, которые отличаются экспрессией специфических ядерных маркеров, присутствующих в пролиферирующих клетках. Наши исследования согласовываются с исследованиями Coltera[3, 4].

Характерным маркером мезенхимальных клеток является виментин –белок промежуточных филаментов цитоскелета клеток. Во время проведения иммуноцитохимической реакции относительно активности экспрессии виментина, нами было установлено значительное количество позитивных клеток с высокой активностью экспрессии этого белка на втором (229 б.) и увеличение его активности на 16% на пятом пассажах до 274 баллов, что свидетельствует о мезенхимальной природе культивированных клеток лошади (таблица1, рисунок 2-б). Во время иммунофенотипирования МСК лошади мы установили умеренное количество актин-положительных клеток на втором пассаже (128 б) изначительное больше актинпозитивных клеток на пятом пассаже (221 б). Что также свидетельствует об их мезенхимальной природе, при этом наблюдался интересный факт клональной специфичности: высокая интенсивность экспрессии актина в некоторых клеточных популяциях (рисунок 2-а).

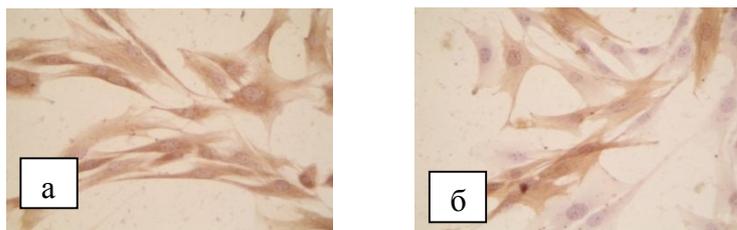


Рисунок 2 –Иммунофенотипическая характеристика мезенхимальных стволовых клеток костного мозга лошади (V пассаж): а – актин - положительные клетки, б – виментин - положительные клетки, x 400

В характеристике мезенхимальных стволовых клеток костного мозга коня на ранних пассажах особое внимание акцентировали на исследование кадгеринов – протеинов, которые отвечают за Ca^{2+} - зависимое межклеточное взаимодействие, особенно в процессе эмбриогенеза и дифференцировки тканей, в частности E-кадгерин, который характерен для эпителиальных клеток взрослого организма и N-кадгерин, который находится преимущественно на поверхности нервных и мышечных клеток. Количество E – и N- кадгерин-положительных клеток на втором пассаже составляло соответственно 138 и 109 баллов, тогда как на пятом пассаже E- кадгерин и N-кадгерин – положительных клеток не наблюдалось (таблица 1, рисунок 3).

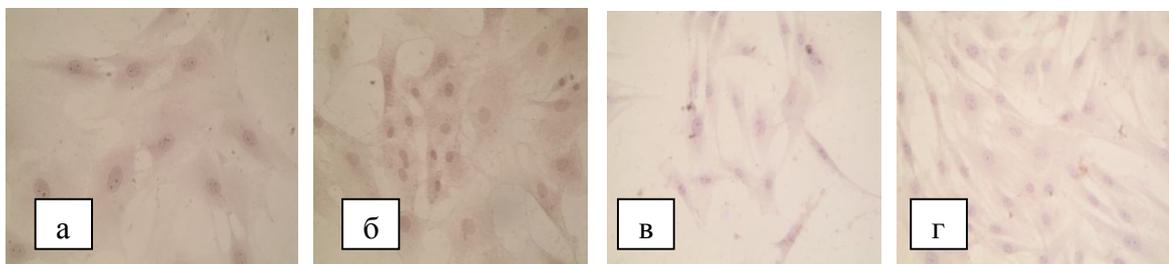


Рисунок 3 –Иммунофенотипическая характеристика мезенхимальных стволовых клеток костного мозга лошади: а – N-кадгерин - положительные клетки, б – E-кадгерин - положительные клетки (II пассаж); в – E-кадгерин - отрицательные клетки, г – N-кадгерин - отрицательные клетки (V пассаж), x 400

Во время иммунофенотипирования клеток лошади, после экспансии *in vitro*, мы уделяли особое внимание маркеру CD24, который принадлежит В-лимфоцитам на всех этапах диферинцирования к плазматическим клеткам, зрелым гранулоцитам, эпителию почек, а также принимает участие в процессах адгезии лейкоцитов. Так, нами было выявлено незначительное количество CD24 – положительных клеток на втором пассаже и полное отсутствие экспрессии этого белка на пятом пассаже (таблица 1, рисунок 4).

Таким образом, в процессе культивирования иммунофенотипическая гетерогенность МСК КМ лошади снижается. Так, на пятом пассаже в селективной среде с ЭТС, мезенхимальные стволовые клетки костного мозга лошади имели морфологическую и фенотипическую гомогенность и не содержали клеток, которые экспрессируют эндотелиальные и гемопоэтические маркеры.

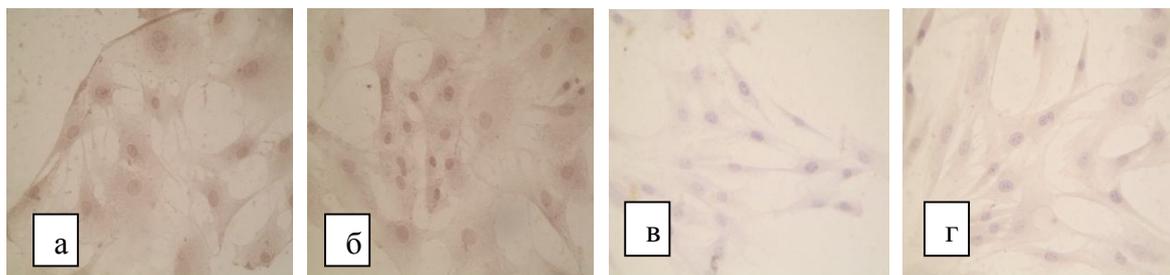


Рисунок 4 –Иммунофенотипическая характеристика мезенхимальных стволовых клеток костного мозга лошади: а – CD24 – положительные клетки; б – CD44 - положительные клетки (II пассаж); в – CD24- отрицательные клетки; г – CD44- отрицательные клетки (V пассаж); х 400

Известно, что белок клеточной адгезии – CD44 является рецептором клеточных мембран для гиалуроната и принимает активное участие в образовании физического контакта между клетками стромы и ранними предшественниками В-клеток. В наших экспериментах выявлено незначительное количество CD44-положительных клеток на втором пассаже и полное отсутствие положительных клеток на пятом пассаже.

Заключение. Установлено, что костный мозг лошадей содержит несколько клонов мезенхимальных стволовых клеток, которые отличаются экспрессией специфических ядерных маркеров, характерных для пролиферирующих клеток. Мезенхимальные стволовые клетки костного мозга лошади на пятом пассаже проявляют морфологическую и фенотипическую гомогенность и не содержат клеток, которые экспрессируют эндотелиальные и гемопоэтические маркеры.

Литература. 1. Мазуркевич А.Й. До методики отримання кісткового мозку та культивування стовбурових клітин поні. / Мазуркевич А.Й., Малюк М.О., Харкевич Ю.О., Бруско Є.П. // Науково-технічний бюлетень інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. - 2013. Вип. 14, № 3,4. □ С. 308 – 313. 2. Методичні рекомендації “Використання мезенхімальних стовбурових клітин для корекції репаративних процесів в організмі тварин-реципієнтів” /Мазуркевич А.Й., Данілов В.Б., Малюк М.О. та ін. - К., 2012. - С. 42. 3. Colter D.C. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow / D.C. Colter, R. Class., С.М. DiGirolamo et. al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. - 2000. - Vol. 97. - P. 3213–3218. 4. Colter D.C. Identification of a subpopulation rapidly self-renewing and multipotential adult stem cells in colonies of human marrow stromal cells / Colter D.C., Sekiya I., Prockop D.J.// Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – Vol. 98. – P. 7841 – 7845. 5. Dominici M. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. / M. Dominici, K. Le Blanc, I. Mueller et al. // Cytoterapy. – 2006. – Vol. 8, 4. – P. 315 – 317. 6. Lin J.R. In vitro culture of human bone marrow mesenchymal stem cell clones and induced differentiation into neuron-like cells. / Lin J.R., Guo K.Y., Li J.O. Yan D.A. // Di Yi Jun Yi Da Xue Bao. – 2003. – Vol. 23. – P. 251 – 253, 264. 7. Xu W. Mesenchymal stem cells from adult human bone marrow differentiate into a cardiomyocyte phenotype in vitro. / Xu W., Zhang X., Qian H. et al. // Exp. Biol. Med. – 2004. Vol. 229. – P. 623 – 631. 8. Zhou Z. Comparative study on various subpopulations in mesenchymal stem cells of adult bone marrow. / Zhou Z., Jiang E. L., Wang M. et al. // Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. – 2005. – Vol. 13. – P. 54 – 58.

Статья передана в печать 07.04.2015 г.

УДК 619: 616. 34-008. 314. 4 – 084

АНТИОКСИДЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВИ (АОА) И ЕЕ ВЗАИМОСВЯЗЬ С СОДЕРЖАНИЕМ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В КРОВИ У ОВЕЦ

Маценович А.А.

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

Дисбаланс микроэлементов в организме овец всех возрастных групп и характерные для условий Белорусской биогеохимической провинции микроэлементозы приводят к нарушению прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме животных, проявляющегося снижением АОА плазмы крови у животных. В статье также приведена динамика АОА плазмы крови у овец при применении разных препаратов микроэлементов с профилактической целью.

Infringement trace elements in an organism of sheep of all age groups and characteristic for conditions of the Belarus biogeochemical province microelementosis lead to infringement oxidizing-antioxidizing balance in an organism of the animals, shown decrease AOA of plasma of blood at animals. In clause as dynamics AOA of plasma of blood at large horned livestock is resulted at application of different preparations of trace elements with the preventive purpose.

Ключевые слова: овцы, микроэлементы, антиокислительная активность плазмы крови, микроэлементозы.

Keywords: sheep, trace elements, oxidizing-antioxidizing balance, microelementosis.

Введение. Интенсивность процессов свободнорадикального окисления (СРО) в организме зависит от баланса антиоксидантной и прооксидантной систем. Микроэлементы-металлы играют исключительную роль в этих процессах [1]. Медь, марганец, железо и селен являются структурными компонентами ферментов АОЗ организма [2]. Ионы цинка, имея сродство с сульфгидрильными группами, способствуют стабилизации сульфгидрильных групп, предупреждая их окисление с участием ионов меди и железа [3]. Утечка ион-радикала $O_2^{\cdot -}$ из митохондриальных цепей переноса электрона при недостатке микроэлементов, входящих в состав цитохрома и других окислительно-восстановительных ферментов клетки, а также при блокировании цитохромов тяжелыми металлами Pb, Cd и Co вследствие их избыточного накопления в клетке, является одним из механизмов прооксидантного действия микроэлементов [3, 4, 5].

Уникальную роль в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме играют металлы переменной валентности. В зависимости от элемента-металла, его концентрации, оксигенации и pH среды, активности других компонентов антиоксидантной защиты (АОЗ) они выполняют роли как активных прооксидантов, так и антиоксидантов [6]. Ионы металлов переменной валентности в восстановленной форме являются обязательным условием для протекания реакций ПОЛ в биологических мембранах по типу «цепной» реакции (прежде всего железо и медь) [6, 7]. Одновременно – они же участвуют и в реакции обрыва цепи, взаимодействуя с радикалами липидных перекисей в присутствии протонов водорода [7, 8]. Таким образом, можно предположить, что в патогенезе микроэлементозов важную роль играют процессы усиления СРО в организме, приводящие, как известно, к функциональной недостаточности клеток и субклеточных структур. Усиление СРО в организме часто является причиной снижения неспецифической резистентности и устойчивости организма к различным заболеваниям, метаболических нарушений и эндотоксикоза [9, 10].

Широкое распространение микроэлементозов среди сельскохозяйственных животных Республики Беларусь [11] обуславливает актуальность изучения процессов СРО в организме овец в зависимости от обеспеченности их микроэлементами.

Целью исследования явилось изучение АОА плазмы крови у овец в условиях биогеохимической провинции Республика Беларусь во взаимосвязи с содержанием микроэлементов в крови и возрастном аспекте, а также в зависимости от лечебно-профилактических мероприятий.

Материал и методы исследования. АОА плазмы крови у овец разных регионов биогеохимической провинции Республика Беларусь изучалась посредством проведения мониторинговых исследований в 2011-2014 годах и определялась по методу [12] в модификации по Н.Ю. Германович [9]. Определение микроэлементов: цинка, кобальта, меди, марганца, кадмия и свинца проводили в цельной крови на атомно-абсорбционном спектрометре МГА 915 (Россия) по методам [13]. Селен и железо определяли в сыворотке крови: селен флуориметрически с 2,3-диаминонафталином по [14], а железо – с ференом без депротеинизации на автоматическом биохимическом с наборами производства Сомтеу (Польша).

Для исследований отбирались овцы без учета породы: 1-я группа – овцы старше 5 лет ($n = 10$); 2-я – овцы 3 - 5 летнего возраста ($n = 25$); 3-я – овцы 1-2 летнего возраста ($n = 21$); 4-я – ягнята до 14-дневного возраста (в группу не входили ягнята 1 дня жизни) ($n = 25$); 5-я ягнята 1 – 3 месячного возраста ($n = 25$); 6-я – ягнята 6-месячного возраста ($n = 25$) и 7-ая - ягнята 9-месячного возраста ($n = 32$). Подбирались клинически здоровые животные и животные с субклиническими нарушениями обмена микроэлементов, которые регистрировались у 61,2 % животных из исследованных. Из них: гипокобальтоз установлен – у 60,6 % животных; недостаточность селена – у 52,9 %; гипокупроз – у 44,9 %; недостаточность цинка – у 30,1 %; недостаточность марганца – у 9,2 %; недостаточность железа – у 5,3 %, гиперфероemia – у 22,5 %, гипермарганцеemia – у 9,3 %; гипермарганцеemia - у 4,3. Лабораторные исследования крови и кормов проводили в НИИГВМБ УО ВГАВМ (Аттестат № ВУ/11202.1.0.087).

Влияние разных препаратов микроэлементов на динамику АОА плазмы крови изучали на 3 группах клинически здоровых ягнят 6-месячного возраста по 10 голов в каждой, созданных с учетом принципа условных аналогов в условиях клиники кафедры внутренних незаразных болезней животных УО ВГАВМ. Животным 1-ой опытной группы задавались микроэлементы: цинк, медь и кобальт в виде натрийэтилендиаминтетраацетатов в дозах, компенсирующих их недостаток в рационе (на момент проведения исследований содержание кобальта составляло 42 % от необходимого, меди - 47 %, цинка - 54 %, а железа содержалось 175 % от нормы). Животным 2-ой опытной группы использовали соответственно кобальта хлорид, медь и цинк серноокислые. Также животным обеих групп добавляли к основным суточным рационам железо из расчета 75 мг на голову (в 1-ой группе в виде натрийэтилендиаминтетраацетата, а во второй в виде железа закисного сульфата). Железо в рационы добавляли по той причине, что во всех рецептах премиксов в Республике Беларусь для овец оно входит в состав добавок, и данная доза является средней. Дачу добавок микроэлементов продолжали в течение 3 месяцев. Животные третьей группы служили контролем и им добавки микроэлементов не использовались.

Результаты исследований. Установлено, что АОА плазмы крови у овец в целом и по возрастам в значительной степени взаимосвязана с содержанием исследованных микроэлементов в крови, на что указывает корреляционный анализ полученных результатов (таблица 1).

Как видно из данной таблицы значимая и достоверная положительная корреляционная зависимость выявлена между содержанием селена и цинка с одной стороны и АОА плазмы крови с другой, у овец, как в целом, так и в возрастном аспекте, что представлено графически на рисунке 1. Активность АОА плазмы крови ($л \cdot мл^{-1} \cdot мин^{-1}$) у овец при нормативном содержании цинка составляла $1765 \pm 0,154$, при гипоцинкемии – $1,38 \pm 0,206$; достоверные различия были выявлены у молодняка и овец 1-2-х летнего возраста, соответственно по группам при гипоцинкемии – $1,31 \pm 0,112$ и $1,35 \pm 0,154$, а при нормативном его содержании – $1,68 \pm 0,122$ и $1,71 \pm 0,132$.

Таблица 1 - Коэффициенты корреляции (r) между содержанием микроэлементов и продуктами ПОЛ и АОА в крови у овец Белорусской биогеохимической провинции

Показатель	Группы животных							В целом
	1	2	3	4	5	6	7	
Se	0,695	0,843	0,721	0,814	0,793	0,771	0,731	0,766
Zn	0,500	0,791	0,624	0,813	0,803	0,851	0,795	0,739
Cd	-0,319	-0,103	-0,224	-0,303	-0,138	-0,242	-0,141	-0,210
Pb	-0,245	-0,323	-0,154	-0,422	-0,315	-0,202	-0,197	-0,265
Cu	-0,259	-0,214	-0,206	0,489	0,128	0,206	0,189	0,047
Fe	-0,409	-0,276	0,187	0,623	0,475	0,324	-0,156	0,109
Mn	0,135	0,179	0,212	-0,093	0,302	0,312	0,207	0,179
Co	0,228	0,322	0,214	0,126	0,227	0,132	0,114	0,194

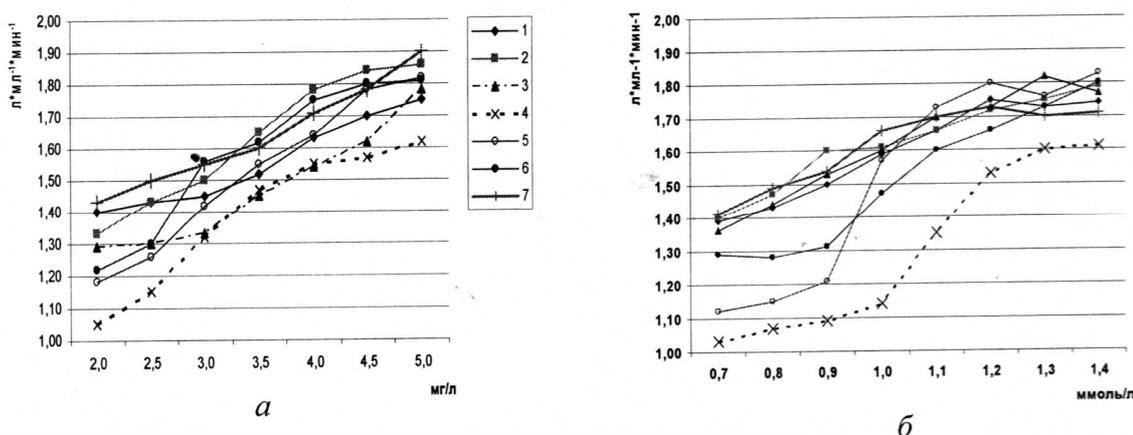


Рисунок 1 - Зависимость АОА плазмы крови у овец от содержания в крови цинка (а) и селена (б) в возрастном аспекте

Отсутствие корреляционной зависимости между содержанием марганца и кобальта у овец в целом и возрастном аспекте объясняется вероятней всего отсутствием прямого механизма участия в данных элементов в регуляции АОА плазмы крови. Однако у овец старше 5 лет и ягнят 9 мес. возраста с содержанием кобальта в крови 20 – 25 мкг/л (в данных группах гипокобальтоз был более выражен по проявлению неспецифических симптомов нарушения минерального обмена) АОА плазмы крови была выше соответственно на 12,3 % и 8,8 % ($p \leq 0,05$). Такая же динамика была и в других возрастных группах, но без достоверных данных. Гипермарганцемия, наблюдаемая в некоторых регионах Витебской области, сопровождалась у овец достоверным снижением АОА плазмы крови, по сравнению с животными с содержанием элемента в крови 150 – 250 мкг/л. Но в данном случае следует отметить, что в крови у обследованных животных одновременно обнаруживали взаимосвязанное снижение содержания кобальта и меди.

Коэффициенты корреляции (таблица 1) между содержанием свинца и кадмия с одной стороны и АОА плазмы крови с другой свидетельствуют о том, что при спонтанном отборе животных для исследований закономерностей обнаружено не было. Вероятней всего это связано с тем, что содержание свинца у 95,5 % животных колебалось в пределах 0,75 – 3,5 мкмоль/л, а кадмия – у 99,0 - 0,3 – 0,7 мкмоль/л, что значительно ниже токсических пределов при остром токсикозе [15].

Анализ таблицы показывает, что содержание меди и железа также не оказывают влияния на АОА плазмы крови. Это в некоторой степени противоречит приведенным выше литературным данным. Рассмотрение АОА плазмы крови в зависимости от уровня содержания данных элементов в крови было установлено, что значение коэффициента корреляции определяется в данном случае этим фактом (рисунок 2).

С некоторыми колебаниями по возрастам содержание меди в крови до 1000 мкг/л соответствует положительным значениям (r), а при более высоком ее содержании зависимость меняет тенденцию на противоположную. У ягнят до 14-дневного возраста и при высоком содержании меди АОА остается на более высоком уровне, чем у более старших животных, что свидетельствует о вероятном важном значении церулоплазмينا в поддержании антиокислительных возможностей плазмы крови у животных данного возраста. В зависимости АОА плазмы крови у овец от содержания железа в сыворотке крови обнаружена та же динамика, что и описанная для содержания меди. Однако следует отметить, что оптимум АОА плазмы крови приходится на более высокий уровень железа, чем является приводимый в литературе для овец нормативный интервал. По нашему мнению, это связано с тем, что нормативный интервал содержания в сыворотке крови железа несколько занижен для животных Белорусской биогеохимической провинции.

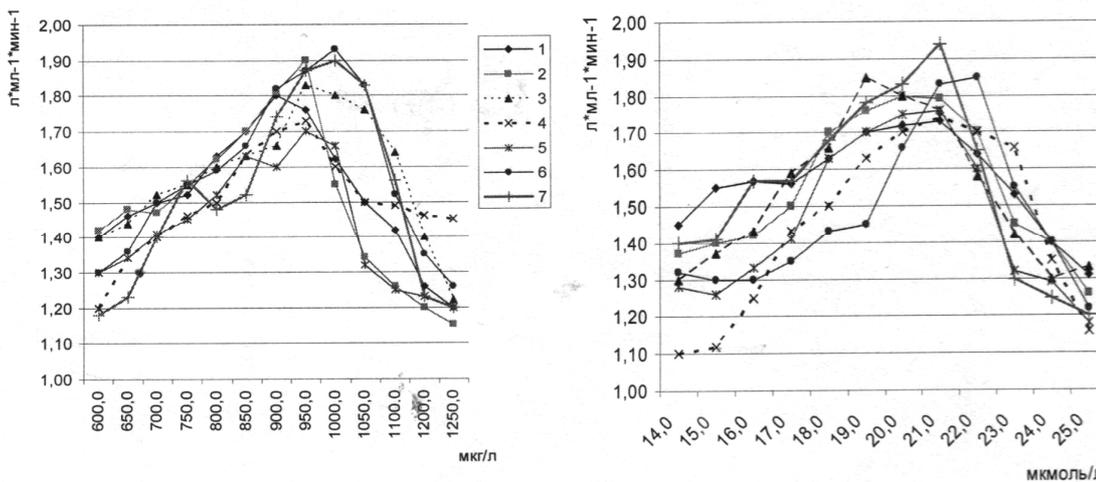


Рисунок 2 - Зависимость АОА плазмы крови у овец от содержания в крови меди (а) и железа (б) в возрастном аспекте

В опыте с обогащением рационов животных микроэлементами установлено, что АОА плазмы крови у животных, которым задавали неорганические соли микроэлементов, наблюдали 2-недельный период снижения АОА плазмы крови. Так в начале опыта АОА плазмы крови у опытных животных составляла $1,59 \pm 0,115$ л·мл⁻¹·мин⁻¹, на 5 день в опытной группе $1,49 \pm 0,122$, а в контрольной $0,147 \pm 0,118$ ($p \leq 0,05$), а к 14 дню эти значения соответственно составляли $1,65 \pm 0,149$ и $1,85 \pm 1,29$. На 30 день эксперимента АОА плазмы крови в опытной группе была уже выше, чем в контрольной и составляла соответственно по группам: $1,90 \pm 0,180$ и $1,66 \pm 0,154$ л·мл⁻¹·мин⁻¹. В опытной группе, где использовали комплексоны соответствующих микроэлементов, динамика АОА плазмы крови у животных была в целом схожей, однако, такого заметного ее снижения в начале эксперимента не было обнаружено. Так на 5 день опыта в данной опытной группе АОА плазмы крови у животных составляла $1,66 \pm 0,155$, а на 14 день – $1,80 \pm 0,173$ и на 30 день – $2,09 \pm 0,151$ л·мл⁻¹·мин⁻¹. Далее тенденция более высокой АОА у животных опытных группах в течение эксперимента сохранялась и после 3 месячного периода применения в группе где использовались комплексоны она составляла $1,92 \pm 0,167$ л·мл⁻¹·мин⁻¹, во второй опытной группе – $1,86 \pm 1,48$ и в контрольной $1,58 \pm 0,173$. Таким образом, обогащение рационов микроэлементами и устранение развития микроэлементозов у животных сопровождалось повышением АОА плазмы крови у животных. Это еще раз подтверждает то, что нарушение прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме является звеном патогенеза для полимикроэлементоза, характерного для овец в условиях Белорусской биогеохимической провинции.

Заключение. На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Дисбаланс микроэлементов в организме овец всех возрастных групп и характерные для условий Белорусской биогеохимической провинции микроэлементозы являются фактором, приводящим к нарушению прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме животных, проявляющегося снижением АОА плазмы крови у животных. Коррекция дисбаланса микроэлементов посредством обогащения рационов микроэлементами приводит к повышению АОА плазмы крови.

2. При назначении животным лечебно-профилактических препаратов микроэлементов следует иметь в виду некоторое побочное действие, связанное со снижением АОА плазмы крови в течение первых 2 недель с момента дачи. В то же время побочное действие у препаратов, содержащих микроэлементы в виде натрийэтилдиаминтетраацетатов, не выражено.

Литература. 1. Борисюк, М.В. Кислород и свободные радикалы/ М.В. Борисюк, В.В. Зинчук, В.Н. Корнейчик - Гродно, 1996.-С.4-7. 2. Бузлама В.С., Рецкий М.И., Мещеряков Н.П. и др. Методическое пособие по изучению процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты организма у животных – Воронеж, 1997 – 35 с. 3. Авцын, А.П. Микроэлементозы человека: этиология, классификация и органопатология/ А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш, Л.С. Строчкова // М.: Медицина, АМН СССР, 1991. – 496 с. 4. Осипов, А.Н. Активные формы кислорода и их роль в организме/ А.Н. Осипов, О.А. Азизова, Ю.А. Владимиров // успехи биологической химии. Т. XXXI. – М., 1990. – С. 180 – 189. 5. Nochl, H. Influence of mitochondrial radical formation on energy-linked respiration// H. Nochl, Breuninger V, Hegner D. Eur. J. Biochem. – 1978. – Vol. 90. - № 2. – P. 385 – 390. 6. Денисов, Е.Т. Кинетика гомогенных химических реакций/ Е.Т. Денисов. – М. Высшая школа, 1980. – 180 с. 7. Владимиров, Ю.А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах/ Ю.А. Владимиров, А.И. Арчаков. – М.: Наука, 1972. – 272 с. 8. Nikki, E. Antioxidant in relation to lipid peroxidation/ F.N. Nikki // Chemistry and physics of lipids. Special issue. Lipids peroxidation; part I. Biochemical and biophysical aspects. – 1987. – V. 44. - № 2 – 4. P 227 – 244. 9. Германович Н.Ю. Функциональное состояние антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в крови у здоровых телят и при диарее.: Автореферат дисс. канд.биол.наук:03.00.13. - Витебск, 2000 – 21 с. 10. Кармалиев Р.Х. Свободнорадикальная патология в этиопатогенезе болезней животных // Ветеринария сельскохозяйственных болезней животных – М., 2006 - № 7 С.36-40. 11. Кучинский, М.П. Биозлементы в сохранении здоровья и продуктивности животных/ М.П. Кучинский. - Минск, 2006. - 264 с. 12. Семенов, В.Л. Метод определения антиоксидантной активности биологического материала / В.Л. Семенов, А.М. Ярош // Укр. биохимический журнал. – 1985. – Т. 57. - № 3. – С. 50 – 52. 13. Маценович, А.А. Определение микроэлементов (Co, Mn, Cu, Zn, Pb, Fe и Cd) атомно-абсорбционным методом с электротермической атомизацией и использованием эффекта Зеемана в крови, тканях организма животных при диагностике микроэлементозов/ А.А. Маценович, А.П. Курдеко, О.П. Позывайло/ Методические указания для лабораторий ветеринарного контроля и исследовательских биохимических лабораторий: утв. ГУВ МСХиП 20.02.2005 г. – Витебск: УО ВГАВМ, 2005. – 26 с. 14. Кондрахин, И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики/ И.П.

УДК 619:618.19-002-085:636.2

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В МОЛОКЕ

Мирончик С.В., Бабаянц Н.В.

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

В статье отражены результаты совершенствования флуоресцентного метода подсчета соматических клеток в молоке.

The article reflects the results of improving fluorescent method of somatic cell count in milk.

Ключевые слова: соматические клетки, флуоресцентный метод, молоко, корова, мастит.

Keywords: somatic cells, fluorescent method, milk, cow, mastitis.

Введение. Проблема маститов, как в Республике Беларусь, так и во всем мире, находится на одном из первых мест. Данное заболевание является решающим аргументом в эффективном ведении молочного животноводства. Состояние молочной железы определяет безопасность и санитарно-гигиенические показатели молока. Только здоровое животное способно дать качественную продукцию. Что обуславливает необходимость регулярного контроля получаемой продукции от молочного стада простыми и точными методами диагностики.

Достижения последних лет сформировали достаточно устойчивое понятие взаимосвязи качества молока и количества соматических клеток в нем [7]. Увеличение концентрации этих клеток в молоке при развитии воспалительных процессов в молочной железе закономерно ввиду того, что к соматическим относят клетки крови, в частности, лейкоциты и нейтрофильные гранулоциты, выполняющие защитную функцию. Действие этих клеток направлено на борьбу с патогенными микроорганизмами, вызывающими развитие мастита. Однако следует знать, что к соматическим относятся не только клетки крови, но и любые клетки организма, тем более молочной железы. Так эпителиальные клетки вымени попадают в секрет молочной железы естественным путем, в результате их старения и обновления слизистой, выстилающей молочные ходы и протоки. То есть, эпителиальные клетки являются составной частью молока, и их концентрация может достигать 70% от общего количества соматических клеток [1], не оказывая существенного влияния на качество и безопасность молока.

Соответственно, суммарная величина соматических клеток в молоке будет зависеть как от наличия воспалительного процесса в вымени, так и от месяца лактации, способа доения, возраста и индивидуальных особенностей организма животного. Чтобы разобраться в причине снижения качества молока и разработать лечебные и профилактические мероприятия с продуктивными животными, на производстве желательнее провести дифференциальную диагностику соматических клеток. Общепринятые методики и способы подсчета соматических клеток подразделяются на прямые и косвенные [6], которые не позволяют судить о процентном соотношении клеток молока. Косвенные методы основаны на учете изменения pH и формирования желеобразного сгустка при добавлении реагентов в исследуемое молоко, что не позволяет делать заключение о точном количестве соматических клеток. Прямые методы, позволяющие проводить точный подсчет соматических клеток, более трудоемкие и дорогостоящие, практически не применяются в условиях животноводческих и перерабатывающих предприятий [4]. Найти «золотую середину» достаточно сложно.

В настоящее время широкое применение нашли приборы, измеряющие количество соматических клеток по изменению вязкости молока – вискозиметры [5]. Однако, этот метод не позволяет проводить дифференциацию клеток. Следует также учесть, что на значения, получаемые на вискозиметре, большое влияние оказывает фальсификация молока химическими и физическими факторами. Известно, что снижается количество соматических клеток в пробе при добавлении в секрет молочной железы таких химических веществ, как перекись водорода, соды, мочевины, а также при термической обработке молока перед исследованием.

В последнее время на молочных хозяйствах в странах Европы широко используется метод флуоресценции [1]. У нас в республике метод флуоресцентной микроскопии пока не применяют. Поэтому разработка и совершенствование методов контроля качества молока, основанных на принципах флуоресцентной микроскопии, в условиях отечественных лабораторий актуальна.

Методы флуоресцентной микроскопии широко применяются в лабораторных исследованиях, так как являются высокочувствительными. Этот метод позволяет получать информацию о структуре и динамических свойствах молекулярных систем [2]. Поэтому применение метода флуоресценции со временем позволит не только определять суммарное количество соматических клеток в молоке, но и проводить их дифференциальную диагностику. Кроме того, компьютерная система обработки полученной информации значительно упростит процесс интерпретации результатов [3]. На получаемые результаты исследований молока не оказывает влияние фальсификация проб химическими веществами, что характеризует метод флуоресценции как более надежный, чем вискозиметрический.

Работы, проводимые в направлении флуоресцентной микроскопии при оценке качества молока,

актуальны в настоящее время, востребованы производством, интересны с точки зрения фундаментальных исследований.

Целью настоящего эксперимента явилось усовершенствование метода флуоресцентной микроскопии определения соматических клеток в молоке. Основной задачей на данном этапе исследований был подбор буферного раствора с целью подготовки проб молока к флуоресцентной микроскопии.

Материал и методы исследований. Для проведения флуоресцентной микроскопии необходима тщательная подготовка к исследованию, которая включает приготовление буферного раствора, окрашивающего раствора, анализируемой пробы.

Сущность избранного метода заключается в том, что цитоплазматическая мембрана соматических клеток разрушается под действием лизогенного буфера, после чего ядра клеток становятся доступными для действия флуоресцентного красителя, который связывается с двухспиральной ДНК соматических клеток, и образуется флуоресцентное вещество, идентифицирующее клетки.

Пробы молока брали от 18 коров на 3-м месяце лактации, подобранных по принципу парных аналогов. Животные были разделены на 3 группы (по 6 голов в каждой):

1 – клинически здоровые животные (без патологических изменений в молочной железе),

2 – с субклиническим маститом (диагноз подтверждался косвенным методом с реактивом «Керба-тест» и прибором «Мастит-тест», принцип действия которого основан на измерении электропроводности молока),

3 – с клиническим острым катаральным маститом цистерн.

Интерпретация результатов при постановке пробы с реактивом «Керба-тест» проводилась согласно инструкции по ниже описанным критериям:

« – » или «отрицательная реакция» – если смесь молока и реагента оставалась жидкой, слизь отсутствовала, что соответствует количеству соматических клеток до 200 тыс. клеток / см³.

« ± » или «сомнительная реакция» – если в смеси молока и реагента при медленном наклоне молочноконтрольной пластины в сторону наблюдались легкие тяжи слизи, что соответствует количеству соматических клеток от 200 до 500 тыс. клеток / см³.

« + » или «положительная реакция» – если в смеси молока и реагента наблюдались четко выраженные тяжи слизи, смесь становилась желеобразной, что соответствует количеству соматических клеток от 500 до 1000 тыс. клеток / см³. При клиническом мастите у коров в смеси наблюдалось чрезвычайно активное образование слизи, смесь становилась густой и желеобразной, что соответствует количеству соматических клеток более 1000 тыс. клеток / см³.

Расшифровка данных прибора «Мастит-тест» проводилась по следующим критериям:

- электропроводность молока 450 и ниже – образец молока высокого качества, вероятность субклинического мастита очень низка:

- электропроводность молока между 450 и 600 единицами – вероятность субклинического мастита увеличивается;

- электропроводность молока выше 600 единиц указывает на субклиническое воспаление с большой вероятностью перехода в клиническую стадию.

Для проведения определения соматических клеток методом флуоресцентной микроскопии, анализируемые пробы хранили при температуре (4±2⁰С). Определение проводили в течение 6 часов после отбора проб.

В качестве лизирующего буфера были испытаны несколько вариантов (таблица 1).

Таблица 1 – Буферные растворы, применяемые в флуоресцентной микроскопии

№ п/п	Компоненты буфера	Количественный состав буфера
1	Калия гидрофталат, г	0,51
	Калия гидроксид, г	0,162
	Вода дистиллированная, см ³	100
2	NaCl, г	8
	KCl, г	0,2
	Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O, г	1,15
	KH ₂ PO ₄ , г	0,2
	Вода дистиллированная, см ³	1000
3	KH ₂ PO ₄ , г	1,36
	KCl, г	3,9
	Вода дистиллированная, см ³	500
	КОН, г	для приготовления концентрированного раствора

Анализируемую пробу молока нагревали на водяной бане, при температуре 40⁰С, постоянно перемешивая. Охлаждали пробу до температуры 20⁰С. Разбавляли анализируемую пробу буферным раствором. В качестве окрашивающего раствора в ходе эксперимента использовали бромистый этидий, приготовленный по прописи: 0,25 г бромистого этидия и дистиллированной воды до 100 см³. Бромистый этидий растворяли в дистиллированной воде, предварительно нагретой до 40⁰С. Раствор охлаждали до комнатной температуры. Доводили объем до 100 см³ дистиллированной водой.

Контрольным методом подсчета соматических клеток в исследуемых пробах молока был прямой метод по Прэскотту-Бриду.

Результаты исследований. Результаты, полученные в ходе собственных исследований, отражены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты, полученные при лабораторном исследовании молока прямыми и косвенными методами

Группа подопытных животных	Лабораторные методы исследования молока		
	флуоресцентной микроскопии, тыс. клеток / см ³	электропроводности, единиц	с реактивом «Керба-тест»
1 группа – клинически здоровые животные (без патологических изменений в молочной железе)	207,2 ± 11,69	442,4 ± 17,84	« – »
2 группа – с субклиническим маститом	702, 8 ± 40, 43	681,3 ± 25,79	« ± » и « + »
3 группа – с клиническим острым катаральным маститом цистерн	1317,5 ± 25,70	1124,8 ± 33,86	« + »

Анализируя таблицу 2, просматривается закономерная динамика полученных результатов, что выражается в увеличенном количестве соматических клеток в пробах молока подопытных животных с диагнозом – субклинический мастит. Среднее количество соматических клеток составило 702, 8 ± 40, 43 тыс. клеток / см³ по группе, что превышает предельно допустимые показатели в 500 тыс. клеток / см³. У коров с клиническим маститом данный параметр превысил допустимые показатели в 2,6 раза.

Подтверждались полученные результаты измерением электропроводности молока и постановкой косвенного метода с реагентом «Керба-тест». Как видно из таблицы 2, средняя величина электропроводности у животных первой группы (клинически здоровых коров) соответствовала показателю для молока высшего сорта. А у животных второй и третьей групп электропроводность превышала верхнюю границу допустимых значений в 1,5 и 2,5 раза соответственно.

Предлагаемый метод флуоресцентной микроскопии дает более конкретные результаты исследований. В ходе исследований в качестве оптимального буферного раствора был определен фосфатный буфер (таблица 1, №3). Выбранный буферный раствор ранее не применялся для подготовки проб молока к флуоресцентной микроскопии. По результатам собственных исследований, можно сделать заключение о том, что предлагаемый буфер не уступает по качеству установленным ГОСТами растворам. Следовательно, его можно рекомендовать для подготовки проб молока при флуоресцентной микроскопии. Пропись предлагаемого раствора проста в приготовлении, включает меньшее количество недорогих компонентов.

Результаты, полученные при флуоресцентной микроскопии проб молока от здоровых животных и больных клиническим маститом, имели существенные отличия. В поле зрения микроскопа при исследовании молока от клинически здоровых животных отмечались единичные свечения соматических клеток. При клиническом мастите у коров в исследуемых микропрепаратах проб отмечалось множество четко просматриваемых светящихся клеток, что свидетельствовало о качественной подготовке проб молока фосфатным буфером для подсчета.

Полученные результаты исследований с применением флуоресцентной микроскопии, по электропроводности и с «Керба-тестом» были подтверждены контрольным прямым методом подсчета соматических клеток по Прескотту-Бриду.

Заключение. На данном этапе исследований нами была проведена модификация метода в целях его упрощения, в частности подбор буферного раствора. При проведении флуоресцентной микроскопии подготовку проб молока рекомендуем проводить фосфатным буфером, который готовится из навесок KН₂ РO₄ (1,36 г) и КСl (3,9 г) на 500 см³ дистиллированной воды, до необходимого рН 7,5 доводят с помощью концентрированного раствора КОН. В качестве окрашивающего раствора желателен использовать бромистый этидий.

Оценка флуоресцентной микроскопии позволила сделать вывод о сложности применения данного метода в условиях производственных лабораторий для контроля молока-сырья, так как он трудоемкий и длительный, но и наиболее точный, чем косвенные методы. Этот способ позволяет увидеть, идентифицировать и сосчитать соматические клетки в молоке. Разработанный вариант метода прямого микроскопирования молока для определения количества соматических клеток планируется усовершенствовать и далее – подсчет и идентификацию клеток в молоке осуществлять с помощью компьютерной системы, чтобы максимално снизить воздействие субъективных факторов, связанных в частности с квалификацией исполнителя исследований, и тем самым облегчить процесс подсчета соматических клеток.

Литература. 1. Свириденко, Г.М. Стандарты определения соматических клеток молока / Г.М. Свириденко // *Переработка молока*. – 2014. – № 3 (173). – С.23-26. 2. Лукашенко, Е.И. Применение флуоресцентного метода для контроля качества молока / Е.И. Лукашенко // *Молочнохозяйственный вестник*. – 2013. – № 1 (13). – С. 65-69. 3. Горелик, В.С. Программный пакет для анализа и математической обработки флуоресцентных спектров биоактивных препаратов / В.С. Горелик, М.Ф. Умаров, Е.И. Лукашенко // *Материалы седьмой Международной научнотехнической конференции ИНФОС-2013*. – Вологда: ВоГТУ, 2013. – С. 49-54. 4. ГОСТ Р ИСО 13366-1-2010 «Молоко. Подсчет соматических клеток. Часть 1. Метод с применением микроскопа (Контрольный метод)» 5. ГОСТ Р 54077-2010 «Молоко. Методы определения количества соматических клеток по изменению вязкости». 6. Гаврилов, Г.Б. Анализ методов определения соматических клеток / Г.Б. Гаврилов, А.А. Макарушин // *Молочная промышленность*. – 2006. – №7. – С.40-42. 7. Шабшаевич М.Л. Определение содержания соматических клеток в молоке-сырье / М.Л. Шабшаевич, В.П. Шидловская // *Молочная промышленность*. – 2007. – №2. – С.30-31.

Статья передана в печать 08.04.2015 г.

УДК 619.615.33.37:636.2

ФИЗИОЛОГО – БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ОРГАНИЗМА ТЕЛЯТ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТОВ «ФЛОВЕТ» И «ФЛОРИКОЛ» ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

*Музыка В.П., *Лисовая Н.Э., *Сободош О.Й., *Шкодяк Н.В., ** Авдачёнок В.Д.

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

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

В статье представлены результаты биохимических исследований крови молодняка КРС при применении препаратов «Фловет» и «Флорикол» для лечения респираторных заболеваний.

Установлена эффективность данных препаратов при лечении воспалительных процессов дыхательных путей и лёгких бактериальной этиологии. Более активные процессы нормализации клинического состояния животных отмечены при применении «Флорикола», чем препарата «Фловет», что обусловлено комплексным воздействием его на организм.

The article presents the results of biochemical tests of cattle blood using medicinal products Flovet and Floricol for treatment of respiratory diseases.

The efficacy of given medicinal products was determined at the treatment of inflammatory processes of respiratory tract and lungs of bacterial etiology. More active processes of clinical state normalization were observed at application of Floricol caused by complex influence of medicinal product on the organism.

Ключевые слова: антибиотики, Флорикол, Фловет, респираторные заболевания, телята.

Keywords: antimicrobial preparation, floricol, flovet, respiratory diseases, calves.

Введение. Стремление к максимальному повышению продуктивности за счет внедрения интенсивных промышленных систем без достаточного учета физиологических потребностей животных ведет к снижению их иммунной реактивности, на фоне которой возникают незаразные болезни, составляющие по основным видам сельскохозяйственных животных около 90%. Среди всех патологий сельскохозяйственных животных, обусловленных технологией содержания, кормления и использования их, наибольший удельный вес занимают незаразные болезни молодняка. При этом на первое место по частоте, массовости и величине экономического ущерба выходят желудочно-кишечные, респираторные заболевания, болезни обмена веществ и кормовые токсикозы. Наиболее широкое распространение получили респираторные заболевания.

В условиях промышленных комплексов респираторные заболевания постоянно регистрируются у 33-35% телят, поступающих из различных хозяйств-поставщиков. Одной из причин возникновения этих болезней являются нарушения зооигиенического режима содержания животных. На предприятия поступают животные с различным уровнем естественной резистентности и иммунобиологической реактивности, что затрудняет проведение мер профилактики и лечения респираторных болезней инфекционной и незаразной этиологии [1].

Поэтому крайне актуальной задачей ветеринарной фармакологии является разработка эффективных средств профилактики и терапии бронхопневмонии телят в целях повышения сохранности молодняка, прироста их живой массы и увеличения мясной продуктивности.

Респираторные заболевания сельскохозяйственных животных представляют собой обширную группу болезней разной этиологии [1,2, 6]. Часто понятие респираторного заболевания объединяет комплекс симптомов, вызванных ассоциацией патогенных составляющих. Для успешного лечения в таком случае оптимальным вариантом будет применение комплексных химиотерапевтических препаратов, воздействующих не только на возбудителя, но и на устранение последствий его пребывания в организме. В таком аспекте представляется перспективным использование препаратов, включающих антимикробный и нестероидный противовоспалительный компоненты. Поэтому для лечения респираторных заболеваний молодняка КРС целесообразным будет применение таких препаратов, в частности, как флорикол, основными действующими составляющими которого выступают антибиотик широкого спектра действия флорфеникол и флуниксина меглумин.

Однако, несмотря на все преимущества применения таких препаратов, результаты проведенных ранее исследований свидетельствовали об изменениях функциональной активности некоторых систем организма, в частности, систем детоксикации и гемопоза, в условиях применения флорфениколов. Не секрет, что многие антибактериальные, равно как и противовоспалительные препараты, будучи ксенобиотиками по отношению к макроорганизму, могут вызывать повреждения клеточных структур, проявляя гепатотоксическое или нефротоксическое действие [7-10]. Поэтому возникает реальная необходимость контролировать состояние организма животных при применении химиотерапевтических препаратов, а это подразумевает детальное исследование влияния препаратов, как на стадии доклинических исследований, так и в период непосредственного применения, для оценки возможных негативных последствий и путей их устранения.

В связи со сказанным выше, в ГНИКИ ветеринарных препаратов и кормовых добавок (г. Львов) проведена серия опытов по изучению терапевтической эффективности и безопасности инъекционных препаратов на основе флорфеникола— "Фловет 30 %" (Украина, Харьков, ТОО "Ветсинтез", действующее вещество флорфеникол 300 мг) и "Флорикол" (ООО "ВИК - здоровье животных", Беларусь, компоненты — 300 мг флорфеникола и 16,3 мг флуниксина меглумин /1мл; вспомогательные вещества — бензиловый спирт, N,N-диметилацетамид, солютол, поливинилпирролидон), при лечении острых респираторных заболеваний телят.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили в Учебном научно-исследовательском центре Львовской национальной аграрной академии, на телятах украинской черно-пестрой породы, 2-4 месячного возраста. После проведенного клинического обследования телят были изолированы животные, у которых выявляли симптомы респираторных заболеваний воспалительного характера (кашель, ускоренное дыхание, у большинства — хрипы при аускультации легких).

Препараты применяли в соответствии с инструкциями по применению — 1 мл на 15 кг массы тела, внутримышечно, дважды, с интервалом 48 часов; телятам I группы (I) вводили препарат "Фловет 30 %", а II группы (II) — "Флорикол". Перед проведением курса антибиотикотерапии, на 7 и 14 сутки после проведенного лечения, у телят забирали кровь для лабораторных исследований. Наблюдение за животными проводили в течение месяца после применения препаратов.

Клиническое состояние и морфологические показатели крови животных определяли по общепринятым методикам [3, 5]. Биохимические показатели в сыворотке крови (СК) — содержание общего белка, креатинина, мочевины, глюкозы, общего холестерина, аланин- и аспаратаминотрансферазы (АлАТ, АсАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) и билирубина — исследовали с помощью биохимического полуавтоматического анализатора HumaLyzer 3000.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы STATISTICA, определяя критерий Стьюдента (t), статистически достоверными считали различия с вероятностью не менее чем 95%, т. е. при $p < 0,05$ [4].

Результаты исследований. Полученные данные свидетельствуют, что в сыворотке крови больных телят перед применением исследуемых препаратов большинство биохимических показателей пребывали в пределах физиологической нормы для данного вида животных, однако отмечены некоторые особенности (таблица 1).

Таблица 1 - Биохимический профиль крови телят в условиях антибиотикотерапии при лечении респираторных заболеваний (M±m, n=10)

Показатель	Группы	До лечения	После лечения		Норма
			7 сутки	14 сутки	
Белок общий, г/л	I	57,7 ± 2,0	55,0 ± 2,1	57,0 ± 2,3	55–70
	II	61,7 ± 2,4	58,1 ± 1,2	60,7 ± 2,3	
Холестерол, ммоль/л	I	2,3 ± 0,2	2,4 ± 0,4	3,7 ± 0,4*	2,3–4,5
	II	2,1 ± 0,3	3,1 ± 0,2 [#]	3,2 ± 0,3 [®]	
Глюкоза, ммоль/л	I	3,8 ± 0,2	3,0 ± 0,2	2,9 ± 0,2	2,5–4,2
	II	3,7 ± 0,5	2,5 ± 0,3	2,6 ± 0,1	
АлАТ, Ед/л	I	31,7 ± 3,2	25,5 ± 2,9	29,4 ± 2,2	10–70
	II	28,0 ± 1,6	28,0 ± 2,2	30,5 ± 3,9	
АсАТ, Ед/л	I	92,0 ± 4,9	70,0 ± 5,1 [#]	90,9 ± 7,3 [®]	58–100
	II	103,4 ± 6,4	86,2 ± 4,4 [#]	89,3 ± 4,7	
ЩФ, Ед/л	I	168,5 ± 20,9	148,3 ± 12,0	114,5 ± 5,9*	100–300
	II	131,7 ± 13,2	111,5 ± 9,2	106,9 ± 5,8	
Креатинин, мкмоль/л	I	117,0 ± 5,6	106,3 ± 5,2	81,2 ± 4,6*	70–110
	II	93,2 ± 4,7	96,3 ± 5,7	90,7 ± 3,4	
Мочевина, ммоль/л	I	4,3 ± 0,4	2,8 ± 0,3 [#]	3,2 ± 0,5	3,0–6,5
	II	4,2 ± 0,3	3,4 ± 0,5	3,8 ± 0,3	

Примечание: # — $p_{0-7} \leq 0,05$; * — $p_{0-14} \leq 0,05$; ® — $p_{7-14} \leq 0,05$

Так, содержание холестерина в крови телят обеих групп находилось на нижней, а содержание глюкозы — на верхней границе физиологической нормы. Кроме того, концентрация креатинина в СК телят I группы превышала пределы нормы, что являлось признаком развития воспалительного процесса в организме животных. Анализ активности трансаминаз СК телят перед проведением антибиотикотерапии показал более высокую активность АсАТ и АлАТ, чем эти показатели в период после применения препаратов фловет и флорикол. Это может быть свидетельством повышенной проницаемости клеточных мембран под влиянием бактериальных токсинов, нарушающих их структуру.

По результатам исследований, на 7 сутки после проведенной антибиотикотерапии в организме телят процессы переаминирования проходили с различной интенсивностью. В частности, в СК телят I и II групп отмечено достоверное снижение активности АсАТ на 23,9 % и 17,3 %, соответственно. При этом активность АлАТ в СК животных, в сравнении с периодом до лечения, существенно не изменялась. Кроме того, установлено постепенное снижение активности ЩФ и незначительное уменьшение содержания общего белка СК животных обеих групп.

Следует также отметить, что на 7 сутки после применения фловета, в СК телят I группы выявлено уменьшение концентрации глюкозы на 21,2 %. В СК телят II группы, при применении флорикола, наблюдалась такая же тенденция. В этот период установлено в СК телят II группы увеличение концентрации общего холестерина на 47,6 % ($p \leq 0,05$), и уменьшение содержания билирубина в 2,4 раза ($p \leq 0,05$). Также зафиксировано достоверное уменьшение в СК телят I группы концентрации мочевины (на 34,9 %, $p \leq 0,05$), и

незначительное уменьшение содержания креатинина, в сравнении с исходными данными, что может быть признаком влияния ксенобиотиков на процессы обмена веществ.

На 14 сутки после применения препаратов в СК телят I и II групп концентрация большинства исследуемых метаболитов нормализовалась до величин, которые соответствуют физиологическим нормам, что свидетельствовало о постепенном выздоровлении животных. В частности, выявлено достоверное уменьшение содержания глюкозы в СК телят I группы на 23,7 % ($p \leq 0,05$) и тенденция к уменьшению этого показателя у животных II группы, в сравнении с периодом до лечения. В СК телят I группы снизилось содержание креатинина на 30,6 % ($p \leq 0,01$), в сравнении с показателями до начала применения препаратов.

На 14 сутки опыта отмечена стабилизация активности аминотрансфераз: активность АлАТ и АсАТ была выше (АсАТ СК телят I группы, в частности, на 29,8 %, $p \leq 0,05$), чем при предыдущем определении, однако показатели были ниже, чем до лечения. В этот период также отмечено снижение активности ЩФ в СК телят II группы, на 32,1 % ($p \leq 0,05$), в сравнении с периодом до лечения, и установлена постепенная нормализация и увеличение ($p \leq 0,05$) содержания общего холестерина СК телят I группы на 60,9%, II группы на 54,2 %, в сравнении с данными до начала применения препаратов. Установленная динамика активности исследуемых показателей свидетельствует о стабилизации мембранных структур гепатоцитов и о позитивных функциональных возможностях печени при применении флорфениколсодержащих препаратов, восстановлении структуры мембран гепатоцитов и отсутствии гепатотоксического влияния флорфениколов на организм телят.

Обобщая результаты, полученные за период исследований, можно утверждать, что терапевтическая эффективность обеих флорфениколсодержащих препаратов при лечении респираторных заболеваний бактериальной этиологии является достаточно высокой; также отмечено более активное восстановление нормального клинического состояния телят при применении флорикола, что обусловлено комплексным влиянием препарата на организм животных.

Заключение. Клиническими исследованиями препаратов «Фловет» и «Флорикол» на телятах установлена их эффективность при лечении воспалительных заболеваний дыхательных путей. Применение препаратов фловет и флорикол не оказывало негативного воздействия на состояние организма животных при использовании в рекомендованной производителями дозе. Анализ биохимических показателей организма телят показал отсутствие существенных изменений функциональной активности ферментативных систем организма при применении флорикола. Отмечено более активные процессы нормализации клинического состояния телят при применении флорикола чем фловета, что обусловлено комплексным влиянием препарата флорикол на организм животных.

Литература. 1. Березняков И. Г. Современные принципы разумного применения антибиотиков / И. Г. Березняков // *Лікування та діагностика*. — 2004. — № 1. — С. 11–22. 2. Виолин Б.В. Химиотерапия при бактериальных и паразитарных болезнях / Б. В. Виолин, В. Е. Абрамов, В.Ф. Ковалев // *Ветеринария*. 2001. — № 1. — С. 17-18. 3. Коцюмбас І. Я. Імунотоксикологічний контроль ветеринарних препаратів та кормових добавок (Методичні рекомендації) / І. Я. Коцюмбас, М. І. Жила, та ін., за редакцією І. Я. Коцюмбаса — Львів, 2014 — 115 с. 4. Мазур Т. Константні методи математичної обробки кількісних показників / Т. Мазур // *Ветеринарна медицина України*. — 1998. — № 11. — С. 35-37. 5. Определение естественной резистентности и обмена веществ сельскохозяйственных животных. / Чумаченко В. Е. [и др.] — Киев: Урожай, 1990. — 200с. 6. Татарчук О.П. Новые тенденции антибиотикотерапии. / О. П. Татарчук // *Ветеринария*. — 2004. — № 12. — С. 12-14. 7. Чорна І. В. Клінічна ензимологія. Ензимодіагностика / І. В. Чорна, І. Ю. Висоцький // *Навчальний посібник* — Суми — Сумський державний університет — 2013 — 244 с. 8. Picco E.J. Chronotoxicology of florfenicol / E.J. Picco, D.C. Diaz, S.E. Valtorta, J.C. Boggi // *Chronobiol. Int.* — 2001. — Vol. 18. — № 3. — P. 567-572. 9. Varma K.J. Pharmacokinetics of florfenicol in veal calves / K.J. Varma, P.E. Adams, T. E. Powers, J.F. Lamendola // *J. Vet. Pharmacol. Ther.* — 1986. — № 9. — P. 412-425. 10. Toxicity to the Hematopoietic and Lymphoid Organs of Piglets Treated with a Therapeutic Dose of Florfenicol / Dongfang Hu, Taixiang Zhang, Zhendong Zhang, Guangwen Wang, Fangkun Wang, Yajin Qu, Yujuan Niu, Sidang Liu // *Veterinary Immunology and Immunopathology* — 2014 — November, 6.

Статья передана в печать 10.03.2015 г.

УДК: 619: 639.2.09.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ РЫБЫ, ВЫЛОВЛЕННОЙ ИЗ ВОДОЁМОВ СУМСКОЙ ОБЛАСТИ

Назаренко С.Н.

Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

В статье приведены данные определения качества и безопасности рыбы выловленной из водоёмов Сумской области. Органолептические показатели (цвет, запах, внешний вид, состояние кожного покрова, консистенция), исследованной нами прудовой рыбы соответствовали показателям доброкачественной рыбы. При микробиологическом исследовании мышечной ткани рыбы бактерии группы кишечной палочки, протей, листерий и сальмонеллы не выделялись. Из микроскопического исследования мазков - отпечатков с поверхностных и глубоких слоев мускулатуры карпов количество микроорганизмов не превышало допустимых уровней. Установлено, что в пробах мышечной ткани рыб, выловленных из прудов Сумской области, уровень содержания свинца 0,0082 – 0,0092 мг/кг и кадмия 0,0002 - 0,0003 мг/кг не превышает предельно допустимых концентраций (1,0 и 0,2 мг/кг). Содержание тяжелых металлов в мышечной ткани рыб из прудов Сумского рыбокомбината составило соответственно свинца 0,0088 мг/кг, кадмия 0,0002 - мг/кг, что также не превышает норму.

The article describes the determination of the quality and safety of fish caught from water bodies Sumy region. Organoleptic characteristics (color, odor, appearance, condition of skin, texture), we studied pond fish consistent with the indicators of benign fish. Microbiological study of the muscle tissue of fish bacteria groups, coliforms, Proteus, Listeria and Salmonella were not allocated. For microscopic examination of smears, fingerprints with superficial and deep layers of muscles Karpov microbial count does not exceed acceptable levels. Found that in samples of muscle tissue of fish caught from ponds Sumy region, the level of lead content 0,0082 - 0,0092 mg/kg and cadmium is 0,0002 – 0,0003 mg/kg not exceed the maximum permissible concentrations (1,0 and 0,2 mg/kg). The content of heavy metals in muscle tissue of fish from ponds Sumy fish were respectively lead 0,0088 mg/kg, cadmium is 0,0002 mg/kg which exceeds the norm.

Ключевые слова: качество, безопасность, органолептика, пруды, рыба, мышечная ткань, тяжелые металлы, *P. vulgaris*, *L. monocytogenes*.

Keywords: quality, safety, organoleptic, ponds, fish, muscle tissue, heavy metals, *P. vulgaris*, *L. monocytogenes*.

Введение. Увеличение объемов выращенной рыбы, производства рыбных продуктов, обеспечение высокого качества рыбы как пищевого продукта зависит от ветеринарно-санитарного состояния рыбохозяйственных водоемов. Существенным недостатком современного рыбоводства является высокий уровень заболеваемости выращиваемых рыб. Так, по данным зарубежных специалистов, потери рыбы от болезней могли бы составить 38 %, и только своевременное применение профилактических и лечебных мероприятий позволяет удерживать их на сравнительно низком уровне [3].

В мировом рыбном хозяйстве аквакультура признается одним из главных факторов, что способствует увеличению производства рыбной продукции и обеспечению потребностей населения. Рыба и рыбопродукты относятся, к так называемым, "пищевым продуктам здоровья". Их ценность заключается, в первую очередь, наличием в их составе большого количества полноценных белков, в состав которых входят все жизненно необходимые аминокислоты [1, 3].

В сложной экологической обстановке, сложившейся в настоящее время во многих регионах мира вследствие загрязнения гидробионтов паразитами, токсическими веществами и др., особую актуальность приобретает ветеринарно-санитарный контроль качества и безопасности пищевой продукции из гидробионтов. Добиваясь высокого качества выпускаемой в продажу рыбы и рыбопродуктов, строго соблюдая санитарно-гигиенические требования, направленные на охрану здоровья людей, специалисты по разведению (выращиванию) гидробионтов и работники рыбной промышленности должны правильно подходить к вопросам выбраковки пищевых гидробионтов, в той или иной степени поражаемой паразитами или патогенами различной этиологии (радионуклиды, токсические соединения и т. д.) [2].

На сегодняшний день актуальным вопросом, стоящим перед агропромышленным комплексом Украины, является обеспечение населения доброкачественными и безопасными в ветеринарно-санитарном отношении продуктами питания. Существенное место среди продуктов занимают продукты рыбоводства, которые содержат большое количество питательных и полезных веществ.

Согласно международным нормам, один человек в год должен потреблять больше чем 20 кг рыбы и рыбной продукции. Сегодня для украинцев эта цифра достигает 15 кг. Для питания населения Украины ежегодно необходимо около 700 тыс. т рыбы и рыбной продукции, из них пресноводной 250-300 тыс. т.

По данным ФАО ВОЗ при Организации Объединенных Наций, здоровье потребителей рыбы менее защищено, чем здоровье потребителей других белковых пищевых продуктов, в том числе животного происхождения. В связи с этим, все большую актуальность приобретает вопрос охраны здоровья людей от болезней и отравлений, носителем или источником возбудителей которых может быть рыба [3, 4, 13].

Материал и методы исследований. Исследования проводились на базе кафедры ветсанэкспертизы, микробиологии, зоогигиены, безопасности и качества продукции животноводства Сумского национального аграрного университета и лаборатории экологической безопасности земель, окружающей среды и качества продукции Сумского филиала ГУ "Госпочвохраны".

Объектом исследования был чешуйчатый карп (*Cyprinus carpio L.*), выловленный из прудов Сумской области, а именно: прудов ООО "Волна", ООО "Украгроаква", ООО "Лебединская рыбоводно – мелиоративная станция" и прудов Сумского рыбокомбината. Экспериментальные исследования проводились, основываясь на принципах моральных ценностей человека, ненанесения вреда животным, милосердия и справедливости к ним. Были соблюдены все биоэтические требования, которые отмечены в Законе Украины "О гуманном отношении к животным" № 692 2008 г. Материалом для исследования служили образцы проб мышц рыбы, которые отбирали согласно "Порядку отбора образцов продукции животного, растительного и биотехнологического происхождения для проведения исследования" от 14 июня 2002 г. № 833. Качество рыбы определяли проведением органолептических исследований, согласно ДСТУ 2284-85, а безопасность - бактериологическим.

При проведении бактериологических исследований определяли: общее бактериальное обсеменение (МАФАНМ), наличие бактерий группы кишечной палочки (БГКП), сальмонелл, протей, листерий по общепринятым методикам [5, 6, 7].

Также определяли наличие в мясе рыбы токсичных элементов (свинец, кадмий) [8, 12, 13].

Результаты исследований. В результате проведения органолептической оценки качества рыбы, выловленной из прудов Сумской области, обращали внимание на внешний вид и состояние кожного покрова, цвет, вкус, запах и консистенцию мышечной ткани, а также проводили пробу варки, данные которой приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Органолептические исследования рыбы (n=7)

Показатели	Место вылова рыбы			
	ООО "Волна"	ООО "Украгроаква"	ООО "Лебединская рыбоводно – мелиоративная станция"	Пруды Сумского рыбокомбината
Слизь	Прозрачная, без постороннего запаха			
Чешуя	Блестящая, плотно прилегает к телу			
Кожа	Упругая, плотно прилегает к тушке			
Плавники	Цельные, естественной окраски, покрыты прозрачной слизью			
Жаберные крышки	Плотно закрывают жаберную полость, жабры покрыты прозрачной слизью, ярко-красного цвета	Плотно закрывают жаберную полость, жабры покрыты прозрачной слизью, ярко-красного цвета	Плотно закрывают жаберную полость, жабры покрыты прозрачной слизью, ярко-красного цвета	Плотно закрывают жаберную полость, жабры покрыты прозрачной слизью, ярко-красного цвета
Глаза	Выпуклые, чистые, роговица прозрачная			
Брюшко	Характерной формы, не вздутое			
Анальное отверстие	Плотно закрыто, без истечения слизи			
Мышечная ткань	Упругая, плотно прилегает к костям, на разрезе спинные мышцы характерного цвета	Упругая, плотно прилегает к костям, на разрезе спинные мышцы характерного цвета	Упругая, плотно прилегает к костям, на разрезе спинные мышцы характерного цвета	Упругая, плотно прилегает к костям, на разрезе спинные мышцы характерного цвета
Запах	Рыбный	Рыбный	Рыбный	Рыбный
Консистенция	Плотная, при надавливании на края разреза мясо сильно пружинит, следы деформации быстро исчезают	Плотная, при надавливании на края разреза мясо сильно пружинит, следы деформации быстро исчезают	Плотная, при надавливании на края разреза мясо сильно пружинит, следы деформации быстро исчезают	Плотная, при надавливании на края разреза мясо сильно пружинит, следы деформации быстро исчезают
Проба варки	Бульон прозрачный, специфический рыбный запах			

Нами был исследован уровень общего микробного обсеменения мяса рыбы и степень контаминации условно-патогенной и патогенной микрофлорой, результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Степень бактериального обсеменения рыбы ($M \pm m$, n=5; $P < 0,05$)

Место вылова рыбы	МАФАНМ, КОЕ/г	БГКП	<i>P. vulgaris</i>	<i>L. monocytogenes</i>	Патогенные м. о., в т. ч. сальмонеллы
ООО "Волна"	$11,7 \times 10^3 \pm 0,24$	–	–	–	–
ООО "Украгроаква"	$9,7 \times 10^3 \pm 0,24$	–	–	–	–
ООО "Лебединская рыбоводно – мелиоративная станция"	$10,0 \times 10^3 \pm 0,64$	–	–	–	–
Пруды Сумского рыбокомбината	$9,5 \times 10^3 \pm 0,64$	–	–	–	–

Примечание : - отсутствие роста

При микробиологическом исследовании мышечной ткани рыбы из прудов Сумской области количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов колебалось в пределах от $10,0 \times 10^3 \pm 0,64$ до $11,7 \times 10^3 \pm 0,24$ КОЕ/г. Общее бактериальное обсеменение рыбы из пруда ООО "Украгроаква" составило $9,7 \times 10^3 \pm 0,24$ КОЕ/г.

В прудах Сумского рыбокомбината КМАФАНМ было несколько ниже, чем в пруду ООО "Украгроаква" и составило $9,5 \times 10^3 \pm 0,64$ КОЕ/г.

В мясе рыбы из всех водоемов бактерии группы кишечной палочки, протей, листерий и сальмонеллы не выделялись.

Из микроскопического исследования мазков - отпечатков с поверхностных и глубоких слоев мускулатуры карпов количество микроорганизмов не превышало допустимых уровней (таблица 3).

Таблица 3 - Показатели микроскопического исследования мазков - отпечатков мускулатуры карпов ($M \pm m$, n=7; $P < 0,05$)

Место вылова рыбы	Поверхностные мышцы	Глубокие мышцы
ООО "Волна"	$8 \pm 0,04$	–
ООО "Украгроаква"	$5 \pm 0,06$	–
ООО "Лебединская рыбоводно – мелиоративная станция"	$5 \pm 1,6$	–
Пруды Сумского рыбокомбината	$4 \pm 0,06$	–

Примечание : - отсутствие роста

Установлено, что в мазках - отпечатках из поверхностных мышц рыбы, были обнаружены палочковидные и шаровидные формы микроорганизмов в количестве от $4 \pm 0,06$ (пруды Сумского рыбокомбината) до $8 \pm 0,04$ (ООО "Волна") микробных клеток в поле зрения микроскопа, а в глубоких мышцах не обнаружены микробные клетки.

В результате исследований рыбы на содержание тяжелых металлов в мясе рыбы были получены данные, которые приведены в таблице 4.

Таблица 4 - Содержание тяжелых металлов в мясе карпа ($M \pm m$, n=7; $P < 0,05$)

Токсичные элементы	Название водоема				ГДК мг/кг
	ООО "Волна"	ООО "Украгроаква"	ООО "Лебединская рыбоводно – мелиоративная станция"	Пруды Сумского рыбокомбината	
кадмий	0,0002	0,0003	0,0002	0,0002	0,2
свинец	0,0087	0,0082	0,0092	0,0088	1,0

Результатами исследований установлено, что в пробах мышечной ткани рыб, выловленных из прудов Сумской области, уровень содержания свинца $0,0082 - 0,0092$ мг/кг и кадмия $0,0002 - 0,0003$ мг/кг не превышает предельно допустимых концентраций (1,0 и 0,2 мг/кг). Содержание тяжелых металлов в мышечной ткани рыб из прудов Сумского рыбокомбината составило соответственно свинца $0,0088$ мг/кг, кадмия $0,0002$ - мг/кг, что также не превышает норму.

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что органолептические показатели (цвет, запах, внешний вид, состояние кожного покрова, консистенция) исследованной нами прудовой рыбы соответствовали показателям доброкачественной рыбы.

В мясе рыбы из всех водоемов бактерии группы кишечной палочки, протей, листерий и сальмонеллы не выделялись.

В пробах мышечной ткани рыб, выловленных из прудов Сумской области, уровень содержания свинца $0,0082 - 0,0092$ мг/кг и кадмия $0,0002 - 0,0003$ мг/кг не превышает предельно допустимых концентраций (1,0 и 0,2 мг/кг). Содержание тяжелых металлов в мышечной ткани рыб из прудов Сумского рыбокомбината составило соответственно свинца $0,0088$ мг/кг, кадмия $0,0002$ - мг/кг, что также не превышает норму.

Литература. 1. Грищенко Л.И. Болезни рыб и основы рыбоводства / Л.И. Грищенко, М.Ш. Акбаев, Г.В. Васильков.- М.: Колос, 1999.- 356 с. 2. Давидов О.Н. Ветеринарно-санитарный контроль харчових гідробіонтів / Давидов О.Н., Абрамов А.В., Темніханов Ю.Д. – Черкаси: видавництво "АНТ", 2007.- 540 с. 3. Давидов О.М. Ветеринарно-санитарный контроль у рибництві / О.М. Давидов, Ю.Д. Темніханов. – К.: "Фірма "Інкос", 2004. – 114 с. 4. Давидов О.Н. Болезни пресноводных рыб / Давидов О.Н., Темніханов Ю.Д.- К.: Ветінформ, 2003.- 438 с. 5. Метод визначення бактерій групи кишкових паличок (коліформних бактерій). ГОСТ 30518-97– Міждержавний стандарт України, 1998.– 47 с. 6. Метод визначення бактерій роду *Salmonella*. ДСТУ/ISO 6579:2006 – К. Держспоживстандарт України, 2007.– 80 с. 7. Метод визначення кількості мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів. МВ 15.2-5.3-004:2007 – К. Держспоживстандарт України, 2008.– 220 с. 8. Методичні вказівки щодо визначення свинцю і кадмію у рибі та продуктах її переробки методом атомно-абсорбційної спектрометрії / [розробники М. С. Павленко, Ю. М. Новожицька, Д. П. Кучерук].– Київ. – 2003. – 10 с. 9. Микитюк П. В. Хвороби прісноводних риб / П. В. Микитюк, О. М. Якубчак.- К.: Урожай, 1992.- 186 с. 10. Обов'язковий мінімальний перелік досліджень сировини продукції тваринного та рослинного походження, комбікормової сировини, комбікормів, вітамінних препаратів та ін., які слід проводити в державних лабораторіях ветеринарної медицини і за результатами яких видається ветеринарне свідоцтво (ф-2) – Київ, 2004. – 45 с. 11. Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Правила приемки, органолептические методы оценки качества, методы отбора проб для лабораторных исследований. ГОСТ 7631-85– Міждержавний стандарт України, 1986.– 54 с. 12. Сырье и продукты пищевые. Методы определения кадмия (ГОСТ 26933 – 86). 13. Сырье и продукты пищевые. Методы определения свинца (ГОСТ 26932 – 86). 14. Тертишний О.С. Рибництво з основами гідробіології / О.С. Тертишний, В.Ф. Товстик. – Харків "Еспада", 2009. – 288 с.

Статья передана в печать 07.04.2015 г.

УДК 636.6.053:619:612.1

СОДЕРЖАНИЕ ОБЩИХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ, ИХ КЛАССОВ И ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МОЛОДНЯКА ПЕРЕПЕЛОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ АКВАХЕЛАТНЫХ РАСТВОРОВ СЕЛЕНА И ГЕРМАНИЯ

Нищененко Н.П., Емельяненко А.А.

Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина

Применение аквахелатных растворов Селена и Германия в процессе инкубации яиц в зависимости от дозы влияет на резистентность и иммунологическую реактивность организма перепелов в период раннего постнатального периода развития. Исследованиями также установлено повышение содержания общих иммуноглобулинов и их классов, снижение концентрации ЦИК в сыворотке крови перепелов 1-5 суточного возраста.

Application akvahelatae solutions Selenium and Germanium during the incubation of eggs affected in a dose-dependent on resistance and immune reactivity quail during early postnatal development. The study also found an increase in the content of total immunoglobulins and their classes, reducing the concentration of CIC in the serum of 1-5 day-old quail.

Ключевые слова: иммуноглобулины, циркулирующие иммунные комплексы, перепела, аквахелатный раствор Селена, Германия.

Keywords: immunoglobulins, circulating immune complexes, quails, solutions akvahelatae Selenium, Germanium.

Введение. Научно-технический прогресс в птицеводстве тесно связан с совершенствованием существующих и разработкой новых методов обеспечения высокой резистентности и иммунологической реактивности птицы. В последние годы в птицеводствах с разным направлением продуктивности птицы регистрируют заболевания, обусловленные воздействием инфекционных агентов. Различные возбудители болезней вызывают нарушения в иммунной системе организма сельскохозяйственной птицы и как следствие наносят значительные экономические убытки, связанные с выбраковкой, гибелью, снижением запланированной продуктивности. Функциональная активность иммунной системы организма зависит от многих факторов. Она обусловлена генетическими характеристиками организма, возрастными особенностями, условиями содержания и технологии кормления [1].

Определение уровня основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови птицы и, в частности перепелов, позволяет получать информацию о состоянии гуморального иммунитета. Одной из биологических функций иммуноглобулинов является нейтрализация антигенов с образованием циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). Это физиологический процесс, который осуществляется в организме животных и птицы и направлен на поддержание гомеостаза. Повышение способности организма вырабатывать иммуноглобулины увеличивает его защитные функции, в результате чего наблюдается рост приспособляемости организма к различным факторам среды, что в свою очередь обеспечивает улучшение продуктивных качеств и сохранность сельскохозяйственной птицы. Важным свойством иммуноглобулинов является их высокая афидность к патогенным возбудителям, в результате чего они способны нейтрализовать бактериальные токсины, снижать инфекционность вирусов, блокировать прикрепления бактерий к клеткам. Иммуноглобулины являются конечными продуктами В-клеток, а определение их содержания в сыворотке крови птицы позволяет оценить В-систему, как с количественной, так и с функциональной стороны [2, 3].

Циркулирующие иммунные комплексы образуются в кровяном русле в ответ на введение антигена. Они состоят из антител, антигена и компонентов комплемента. Образующиеся иммунные комплексы в норме увлекаются фагоцитами и разрушаются ими. Уровень циркулирующих иммунных комплексов дает определенное представление об активности иммунной защиты [4].

Микроэлемент Селен активно образует соединения с белками, входит в глобулиновую фракцию и в состав белков сыворотки крови, гемоглобина, лейкоцитов, липопротеинов, фибриногена, урокиназы и фибриназы [5]. Известно также, что микроэлемент Германий стимулирует синтез антител, повышает бактерицидную активность сыворотки крови, способствует омоложению клеточных мембран [6]. Исследователями установлено стимулирующее влияние Селена и Германия на повышение резистентности и стимуляцию иммунного ответа, а также на качество и эффективность использования кормов, рост и развитие пищеварительного тракта [7, 8].

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования проводились в научно-исследовательской лаборатории кафедры нормальной и патологической физиологии животных Белоцерковского национального аграрного университета. Для исследования использовали перепелов (*Coturnix coturnix japonica*) одно- и пятисуточного возраста, породы фараон, мясного направления продуктивности. Параметры микроклимата помещения, где содержалась птица, отвечали зооигиеническим нормам и были одинаковыми для всех групп.

Для проведения исследования были сформированы шесть подопытных и одна контрольная группа по 150 голов в каждой. Яйца птицы трех подопытных групп в период инкубации обрабатывались аквахелатным раствором Селена в дозах: мкг / кг яиц: I - 0,05; II - 0,5; III - 1,0, а трех других подопытных групп – раствором аквахелата Германия в дозах: мкг / кг яиц: I - 2,5; II - 5,0; III - 7,5. Яйца перепелов контрольной группы обрабатывались дистиллированной водой.

Для проведения биохимических исследований материал отбирали в одно- и пятисуточном возрасте перепелов. Из каждой группы отбирали по 5 перепелов в одно и то же время суток для исключения суточных

колебаний физико-биохимических параметров. Применяли эфирный наркоз, отбирали кровь после декапитации птицы, сыворотку для исследования готовили по общепринятым методам.

Результаты исследований. Из данных, приведенных в таблице 1, видно, что содержание общих иммуноглобулинов в сыворотке крови под влиянием Селена во второй группе перепелов 1-но суточного возраста было $7,30 \pm 0,07$ г/л, что достоверно больше, чем в контроле на 10,6% ($p < 0,05$), а на 5-е сутки показатель возрос до $8,40 \pm 0,10$ г/л, или на 7,7% ($p < 0,01$) достоверно больше, чем в контроле. Это свидетельствует об активизирующем влиянии хелатного раствора Селена на специфическую иммунореактивность организма перепелов в период раннего постнатального развития.

В 1-й группе, как на первые, так и на пятые сутки опыта, содержание общих иммуноглобулинов в сыворотке крови птицы имело только тенденцию к увеличению по сравнению с контрольной группой. Это свидетельствует о незначительном влиянии данной дозы раствора аквахелата Селена на синтез иммуноглобулинов. В третьей группе содержание общих иммуноглобулинов в сыворотке крови перепелов имело тенденцию в сторону уменьшения.

Таблица 1 - Динамика содержания общих иммуноглобулинов, их классов и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови перепелов под влиянием аквахелатного раствора Селена, n=5

Показатели крови	Перепела односуточного возраста			
	Группа			
	1	2	3	Контроль
Общие иммуноглобулины, г/л	$7,04 \pm 0,15$	$7,30 \pm 0,07^*$	$5,83 \pm 0,29$	$6,60 \pm 0,20$
Ig A, г/л	$0,63 \pm 0,02$	$0,73 \pm 0,02^*$	$0,56 \pm 0,06$	$0,61 \pm 0,04$
Ig M, г/л	$0,26 \pm 0,01$	$0,27 \pm 0,01^*$	$0,22 \pm 0,01^{**}$	$0,25 \pm 0,01$
Ig G, г/л	$5,65 \pm 0,03^*$	$5,69 \pm 0,04^*$	$5,42 \pm 0,03$	$5,49 \pm 0,05$
ЦИК: (ед. опт. плотн.)				
Среднемолекулярные	$0,15 \pm 0,02$	$0,10 \pm 0,01^*$	$0,16 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,01$
Низкомолекулярные	$1,69 \pm 0,03$	$1,48 \pm 0,05^*$	$1,77 \pm 0,04$	$1,66 \pm 0,05$
Перепела пятисуточного возраста				
Общие иммуноглобулины, г/л	$8,16 \pm 0,21$	$8,40 \pm 0,10^{**}$	$7,48 \pm 0,45$	$7,80 \pm 0,12$
Ig A, г/л	$0,72 \pm 0,02^*$	$0,76 \pm 0,02^{**}$	$0,59 \pm 0,01$	$0,65 \pm 0,02$
Ig M, г/л	$0,41 \pm 0,01^*$	$0,47 \pm 0,02^{**}$	$0,35 \pm 0,01$	$0,38 \pm 0,01$
Ig G, г/л	$6,72 \pm 0,03^*$	$6,78 \pm 0,03^{**}$	$6,51 \pm 0,06$	$6,54 \pm 0,05$
ЦИК: (ед. опт. плотн.)				
Среднемолекулярные	$0,96 \pm 0,08$	$0,82 \pm 0,04$	$1,08 \pm 0,05$	$0,90 \pm 0,08$
Низкомолекулярные	$2,78 \pm 0,03$	$2,71 \pm 0,03$	$2,95 \pm 0,02^*$	$2,76 \pm 0,07$

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

Содержание Ig M, которые отвечают в организме за первичный иммунный ответ, в сыворотке крови перепелов первой подопытной группы в односуточном возрасте имело тенденцию к увеличению по сравнению с контролем, а в возрасте 5-ти суток их содержание достоверно было больше, по сравнению с контрольной группой на 7,8% ($p < 0,05$). Однако во 2-й подопытной группе содержание Ig M в сыворотке крови перепелов достоверно увеличивалось в односуточном возрасте на 8,0% ($p < 0,05$), а на пятые сутки было больше на 23,6% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. Это свидетельствует о повышении резистентности организма перепелов в результате своевременного первичного иммунного ответа. В 3-й подопытной группе у перепелов суточного возраста содержание Ig M было $0,22 \pm 0,01$ г/л, что достоверно меньше на 12% ($p < 0,01$), чем в контрольной группе. В пятисуточном возрасте отмечена лишь тенденция к уменьшению этого показателя.

После синтеза Ig M наступает следующий более высокий этап иммунного ответа - образование Ig G [3]. Установлено, что их содержание в сыворотке крови перепелов 1-но и 5-ти суточного возраста в первой подопытной группе было на 2,9% и 2,7% больше по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Во 2-й группе содержание Ig G в сыворотке крови перепелов односуточного возраста было $5,69 \pm 0,04$ г/л, а на пятые сутки $6,78 \pm 0,03$ г/л, что соответственно на 3,6% ($p < 0,05$) и 3,7% ($p < 0,01$) больше, по сравнению с контрольной группой. Это свидетельствует о том, что в условиях влияния аквахелатного раствора Селена произошло повышение резистентности организма перепелов в эти критические фазы развития. Однако в третьей подопытной группе наблюдалась тенденция к уменьшению содержания Ig G в сыворотке крови птицы как в одно- так и пятисуточном возрасте.

Содержание Ig A в сыворотке крови перепелов 2-й подопытной группы у 1-суточных перепелов увеличилось в 1,2 раза по сравнению с контролем ($p < 0,05$), а на пятые сутки их содержание увеличилось по сравнению с контрольной группой в 1,1 раза ($p < 0,01$). Таким образом, аквахелатный раствор Селена в микродозах способствует формированию иммунной защиты организма перепелов. При этом в первой группе в сыворотке крови перепелов 1-но и 5-ти суточного возраста отмечали тенденцию к увеличению исследуемого показателя относительно контроля. Однако, в 3-й группе наблюдали уменьшение содержания Ig A в сыворотке крови перепелов упомянутого возраста.

Известно, что образование иммунных комплексов как продуктов реакции антиген-антитело является частью защитных механизмов, то есть одним из компонентов иммунного ответа. Длительная циркуляция их в организме приводит к образованию и накоплению в тканях и вызывает повышение агрегации тромбоцитов, что в свою очередь нарушает микроциркуляцию крови в тканях [4].

В 1-но и 5-ти суточном возрасте перепелов в сыворотке крови в первой подопытной группе достоверной разницы содержания среднемолекулярных и низкомолекулярных ЦИК по сравнению с контрольной группой не установлено. Однако, во 2-й группе отмечено достоверное уменьшение ЦИК в сыворотке крови перепелов

суточного возраста среднемолекулярных комплексов в 1,4 раза, а низкомолекулярных в 1,1 раза ($p < 0,05$). В пятисуточном возрасте отмечалась лишь тенденция к уменьшению данных показателей. Снижение содержания ЦИК в сыворотке крови подопытных групп указывает на уменьшение образования антигенов и повышение реактивности иммунной системы к их элиминации. Необходимо отметить, что в 3-й подопытной группе содержание циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови перепелов имело только тенденцию к увеличению в суточном возрасте, а на пятые сутки отмечали увеличение содержания низкомолекулярных ЦИК на 6,9% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

В таблице 2 приведены результаты влияния раствора аквахелата Германия на содержание общих иммуноглобулинов в сыворотке крови перепелов в суточном и 5-ти суточном возрасте в 1-х подопытных группах содержание общих иммуноглобулинов имело тенденцию к увеличению по сравнению с контролем. В частности во 2-й подопытной группе у суточных перепелов регистрировали достоверное увеличение содержания общих иммуноглобулинов в сыворотке крови на 9,4% ($p < 0,05$), а в 5-ти суточном возрасте на 8,9% ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой. Это свидетельствует о том, что хелатный раствор Германия оказывает положительное влияние на состояние специфической резистентности организма перепелов. Однако, в третьей группе отмечали тенденцию к уменьшению их содержания по сравнению с контролем на протяжении эксперимента.

Содержание Ig M в сыворотке крови перепелов в односуточном возрасте в первой подопытной группе имело тенденцию к увеличению по сравнению с контролем, а на пятые сутки их содержание достоверно увеличилось на 18,4% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Это, возможно, связано со стимулирующим действием аквахелата Германия на синтез собственных антител. В третьей группе содержание Ig M в сыворотке крови перепелов в суточном возрасте было достоверно меньше на 20,0% ($p < 0,05$), а в пятисуточном возрасте отмечена лишь тенденция к уменьшению их содержания по сравнению с контролем.

Таблица 2 - Динамика содержания общих иммуноглобулинов, их классов и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови перепелов под влиянием аквахелатного раствора Германия, n=5

Показатели крови	Перепела односуточного возраста			
	Группа			
	1	2	3	Контроль
Общие иммуноглобулины, г/л	7,14±0,21	7,22±0,05*	5,91±0,30	6,60±0,20
Ig A, г/л	0,67±0,03	0,76±0,03*	0,58±0,02	0,61±0,04
Ig M, г/л	0,27±0,02	0,29±0,02*	0,20±0,01*	0,25±0,01
Ig G, г/л	5,73±0,06*	5,76±0,07*	5,46±0,01	5,49±0,05
ЦИК, (ед. опт. плот.)				
Среднемолекулярные	0,16±0,02	0,11±0,01*	0,18±0,01*	0,14±0,01
Низкомолекулярные	1,73±0,05	1,56±0,09	1,83±0,04*	1,66±0,05
Перепела пятисуточного возраста				
Общие иммуноглобулины, г/л	8,20±0,20	8,50±0,16**	7,66±0,24	7,80±0,12
Ig A, г/л	0,74±0,03*	0,79±0,02**	0,56±0,05	0,65±0,02
Ig M, г/л	0,45±0,02*	0,52±0,03**	0,32±0,04	0,38±0,01
Ig G, г/л	6,77±0,06*	6,83±0,03**	6,49±0,03	6,54±0,05
ЦИК, (ед. опт. плотн.)				
Среднемолекулярные	1,12±0,09	0,82±0,04	1,08±0,05*	0,90±0,08
Низкомолекулярные	2,86±0,04	2,64±0,05	3,03±0,04**	2,76±0,07

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

Содержание Ig G в сыворотке крови перепелов в односуточном возрасте в первой подопытной группе было достоверно больше на 4,3 %, в 5-ти суточном возрасте – на 3,5% по сравнению с контролем. В то же время в третьей группе как в одно- так и пятисуточном возрасте наблюдалась тенденция к уменьшению содержания иммуноглобулинов класса G в сыворотке крови перепелов по сравнению с контролем.

Однако в суточном возрасте содержание Ig G в сыворотке крови перепелов во 2-й подопытной группе было на 4,9% ($p < 0,05$), а в 5-ти суточном возрасте на 4,4% ($p < 0,01$) больше по сравнению с контрольной группой. Повышение способности организма вырабатывать иммуноглобулины увеличивает его защитные функции, в результате чего наблюдается рост приспособляемости организма к вредным факторам среды.

У перепелов 1-суточного возраста в сыворотке крови в первой подопытной группе наблюдали четкую тенденцию к увеличению содержания Ig A, а в пятисуточном возрасте достоверное увеличение его концентрации на 13,8% по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Во 2-й подопытной группе у перепелов одно и 5-ти суточного возраста в сыворотке крови содержание Ig A достоверно увеличилось на 24,6% ($p < 0,05$) и 21,5% ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной группой. Это указывает на своевременный первичный иммунный ответ под влиянием хелатного раствора Германия путем повышения резистентности организма перепелов. В 3-ей подопытной группе как в одно- так и пятисуточной возрастной концентрации Ig A в сыворотке крови имела тенденцию к уменьшению по сравнению с контролем.

В сыворотке крови перепелов суточного возраста во второй подопытной группе циркуляция иммунных комплексов среднего размера была достоверно меньше по сравнению с контролем на 21,5% ($p < 0,05$), а в пятисуточном возрасте их содержание имело лишь тенденцию к уменьшению. Это свидетельствует о повышении специфической иммунной защиты организма перепелов в критические фазы развития под влиянием раствора аквахелата Германия. Однако, в 3-ей подопытной группе перепелов 1-5 суточного возраста содержание среднемолекулярных ЦИК было достоверно больше, чем в контроле на 28,5 % и 20,0 % по

сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), содержание низкомолекулярных ЦИК было достоверное больше по сравнению с контролем на 10,2% ($p < 0,05$) и 9,7% ($p < 0,01$).

Заключение. По результатам выполненной работы можно сделать следующие выводы:

1. В результате проведенных нами исследований, установлено, что применение аквахелатных растворов Селена и Германия в дозе 0,05 мкг/кг и 2,5 мкг/кг соответственно, являются оптимальными.

2. Содержание общих иммуноглобулинов и их классов, а также концентрации циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови перепелов 1-но и 5-ти суточного возраста, под влиянием аквахелатных растворов Селена и Германия увеличивается. Таким образом, аквахелатные растворы Селена и Германия проявляют стимулирующее влияние на клеточное звено специфического иммунитета, способствуют увеличению защитных свойств организма молодняка перепелов.

Литература. 1. Сурай П.Ф., Фисинин В.И. Современные методы борьбы со стрессами в птицеводстве: от антиоксидантов к вите генам // *Сельскохозяйственная биология*. 2012. №4. С. 3-13; 2. Блотников И.А. Физиолого-биохимические основы иммунитета сельскохозяйственной птицы / И.А. Блотников, Ю.В. Конопатов. – Л.: Наука, 1987. – С. 49. 3. Митюшников В.М. Естественная резистентность сельскохозяйственной птицы / В.М. Митюшников. – М.: Россельхозиздат. – 1985. – С. 146. 4. Королевская Л.Б., Шмагель К.В. Определение размеров иммунных комплексов методом спектрофлуориметрии // *Л.Б. Королевская, К.В. Шмагель // Российский аллергологический журнал*. – 2010. – № 1, вып. 1. – С. 87-88. 5. McKenzie R.C., Rafferty T.S., Beckett G.J. Selenium: an essential element for immune function // *Immunol. Today*. 1998. P. 342-345. 6. Птахівництво: міквід. темат. наук. зб. /ІП НААН. – Харків, 2011. – Вип. 67. - 266 с. 7. Effects of germanium on the growth of the main tissues and organs of the broilers / [Liu Fuzhu, Huang Yankun, Niu Zhuye et al.] // *Acta Universitatis Agriculturae Boreali-occidentalis*. – 2001. – № 29(6). – P. 90–94. 8. El-Sayed W. M. Effect of selenium containing compounds of hepatic chemoprotective enzymes in mice / W. M. El-Sayed, T. Abail-Fade, J. G. Lamb // *Toxicology*. — 2006. — V. 220, № 2–3. — P. 179–188.

Статья передана в печать 08.04.2015 г.

УДК 636.6.087.74:612.3

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА НЕЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ НА ПРОЦЕССЫ ПИЩЕВАРЕНИЯ У ПЕРЕПЕЛОВ

Нищепенко Н.П., Порошинская О.А., Саморай Н.Н., Стовецкая Л.С., Прокопишина Т.Б.

Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина

Результаты исследований гомогенатов разных тканей органов пищеварения перепелов показали, что активность ферментов перепелов подопытной группы была выше в течение эксперимента, как в сравнении с соответствующим показателем до скармливания аминокислот, так и по сравнению с активностью этих ферментов у перепелов контрольной группы. Установлено, что добавление к рациону перепелов комплекса аминокислот (лизина, метионина и треонина) положительно влияет на активность протеолитических, амилолитических и липолитических ферментов и способствует лучшему перевариванию и усвоению питательных веществ корма.

The research results of homogenates of different tissues of the digestive system quails showed that the activity of enzymes quail experimental group was higher during the experiment, as compared with the corresponding figure before feeding amino acids, and compared with the activity of these enzymes in quails control group. It is established that the addition to the diet of quails complex of amino acids (lysine, methionine and threonine) has a positive effect on the activity of proteolytic, amylolytic and lipolytic enzymes and promotes better digestion and absorption of feed nutrients.

Ключевые слова: перепела, лизин, метионин, треонин, ферменты органов пищеварения, протеолитическая, амилолитическая, липолитическая активность.

Keywords: quail, lysine, methionine, threonine, enzymes of the digestive system, proteolytic, amylolytic, lipolytic activity.

Введение. Главной структурной частью живых организмов являются белки, которые представляют собой высокомолекулярные соединения, построенные из аминокислот и их остатков, соединенных пептидными связями. Аминокислоты играют первостепенную роль в организме, обеспечивая ход таких физиологических процессов, как обмен веществ, размножение, рост и развитие птицы и др. Долгое время считалось, что для сельскохозяйственной птицы основными лимитирующими аминокислотами являются лизин и метионин. Однако, в последние годы научно доказано, что и треонин имеет чрезвычайно важное значение для организма птицы [1, 2]. Именно эти аминокислоты обеспечивают не только синтез белка, но и активность ферментов, нуклеиновых кислот, гормонов и многих других биологически активных веществ. Недостаток незаменимых аминокислот или несбалансированность их соотношения в рационе приводит к нарушению обмена белков, углеводов, липидов, витаминов, а также задержке роста и развития молодняка, снижению продуктивности и нарушению способности взрослой птицы к воспроизводству. Собственно поэтому, для нормальной жизнедеятельности организма перепелов необходимо наличие этих важных незаменимых аминокислот.

Ферменты органов пищеварения играют важную роль в процессе деятельности живого организма. Благодаря их действию, обеспечивается потребность птицы в пластичном и энергетическом материале за счет корма, который в пищеварительном канале подвергается физическому воздействию и биохимическим превращениям. Пищеварительная и абсорбционная способность желудочно-кишечного тракта зависит в

значительной мере от степени выделения желчи, панкреатических и кишечных ферментов, которое приводит к лучшему транспорту питательных веществ через стенку кишечника.

Гидролиз питательных веществ корма и всасывание продуктов пищеварения зависит от функционального состояния кишечника, основными показателями деятельности которого является его секреторная и ферментативная активность. Многими исследованиями доказано влияние разных видов кормов, как субстратов, на структурные и функциональные изменения кишечника [3, 4]. По данным литературы, адаптация кишечника к разному составу рациона проявляется в основном за счет изменения интенсивности синтеза и активности пищеварительных ферментов [5, 6].

Следовательно, в связи с тем, что функциональное состояние двенадцатиперстной кишки и поджелудочной железы обуславливает интенсивность пищеварительных процессов в других отделах пищеварительного канала и имеет прямую связь с общим метаболизмом во всем организме птицы, исследования активности ферментов органов пищеварения перепелов, под влиянием комплекса аминокислот, является актуальным и нуждаются в более детальном изучении.

Материалы и методы исследования. Опыты по определению активности ферментов органов пищеварения проводили в условиях вивария Белоцерковского НАУ на перепелах породы Фараон в период их выращивания из суточного до 60-суточного возраста. Для эксперимента были сформированы 2 группы – контрольная и подопытная, по 100 голов в каждой, предопытный период длился 10 дней, а основной – 50. Перепела обеих групп получали комбикорм, сбалансированный согласно нормам кормления, а подопытным добавляли к комбикорму аминокислоты в дозах: L-лизин – 0,3 % , DL-метионин – 0,2 % , L-треонин – 0,2 % .

Для определения активности ферментов, которые принимают участие в процессах пищеварения, у перепелов контрольной и подопытных групп отбирали пробы химуса и слизистой оболочки 12-перстной кишки, а также ткань поджелудочной железы. В исследуемом материале определяли протеиназную, амилолитическую и липолизическую активность ферментов [7, 8, 9].

Результаты исследований. Результаты исследований гомогенатов разных тканей органов пищеварения перепелов показали, что активность протеолитических ферментов дуоденального содержимого перепелов подопытной группы была выше в течение эксперимента, как в сравнении с соответствующим показателем до скармливания аминокислот, так и по сравнению с активностью этих ферментов у перепелов контрольной группы (таблица 1). Однако, на 25-е и 40-е сутки мы наблюдали лишь тенденцию к повышению этого показателя, а на 55-ом установили достоверный рост протеолитической активности в подопытной группе на 24,2 % ($p < 0,01$) в сравнении с контрольной.

Таблица 1 – Протеолитическая активность тканей органов пищеварения перепелов, ммоль/л, $M \pm m$, $n = 6$

Показатели	Группы	Возраст перепелов, суток			
		10	25	40	55
Дуоденальное содержимое	Контрольная	32,5±2,4	35,7±1,7	27,9±0,36	31,4±1,06
	Подопытная	33,9±4,1	42,4±2,6	33,8±0,93	39,0±1,12**
Слизистая оболочка 12-перстной кишки	Контрольная	19,8±1,6	21,4±0,97	10,0±0,84	12,8±0,52
	Подопытная	20,1±2,9	19,79±0,53	15,3±0,66	15,32±0,74*
Поджелудочная железа	Контрольная	43,2±5,6	45,54±1,6	36,2±0,9	53,2±1,64
	Подопытная	44,1±5,3	51,3±2,0	44,5±1,3*	63,0±2,04**

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

Протеолитическая активность слизистой оболочки 12-перстной кишки перепелов подопытной группы, также изменялась в течение эксперимента. В частности, на 40-е сутки наблюдали незначительное повышение активности ферментов, однако эта разница не была достоверной. На 55-е сутки эксперимента нами установлено увеличение протеолитической активности до 15,32±0,74 ммоль/л, что на 19,7 % ($p < 0,05$) выше, чем в контроле (12,8±0,52 ммоль/л). Наши данные согласовываются с результатами, полученными другими исследователями [10, 11], изучавшими влияние кормовых добавок, которые содержали аминокислоты, на ферментативную активность различных органов пищеварения у других видов птицы.

В ткани поджелудочной железы перепелов, которым добавляли к рациону комплекс аминокислот, протеолитическая активность ферментов была достоверно выше на 40-е и 55-е сутки эксперимента соответственно на 22,9 % ($p < 0,05$) та 18,4 % ($p < 0,01$), чем у птицы контрольной группы.

При исследовании активности амилазы в дуоденальном содержимом (таблица 2) было установлено, что на протяжении эксперимента она увеличивалась у перепелов как контрольной, так и подопытной групп, однако в сравнении с контролем активность этого фермента в подопытной группе была несколько выше. Так, на 25-е сутки отмечалась лишь тенденция к повышению этого показателя, а на 40-е и 55-е мы установили достоверное возрастание активности амилазы в подопытной группе на 33,3 % ($p < 0,01$) и на 38,1 % ($p < 0,05$) в сравнении с контролем.

Таблица 2 – Амилолитическая активность тканей органов пищеварения перепелов, г/схл, $M \pm m$, $n = 6$

Показатели	Группы	Возраст перепелов, суток			
		10	25	40	55
Дуоденальное содержимое	Контрольная	0,34±0,12	0,41±0,07	0,48±0,01	1,18±0,07
	Подопытная	0,37±0,09	0,48±0,04	0,64±0,04**	1,63±0,16*
Слизистая оболочка 12-перстной кишки	Контрольная	0,46±0,06	0,55±0,08	0,31±0,04	0,95±0,17
	Подопытная	0,44±0,08	0,57±0,19	0,35±0,01	1,04±0,15
Поджелудочная железа	Контрольная	3,51±0,16	4,07±0,06	3,32±0,17	4,01±0,08
	Подопытная	3,58±0,21	4,23±0,1	4,18±0,11**	4,75±0,14**

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

Исследованиями установлено, что скармливание комплекса незаменимых аминокислот не имело значительного влияния на активность амилолитических ферментов слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки перепелов. В частности, активность амилазы у птицы подопытной группы была несколько выше в течение эксперимента в сравнении с соответствующим показателем в начале исследования и с активностью амилолитических ферментов у перепелов контрольной группы, но это повышение было незначительным и недостоверным. При исследовании амилолитической активности ткани поджелудочной железы установлено, что в течение эксперимента во всех группах она была значительно выше, чем в химусе и слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки. Но у перепелов, к рациону которых добавляли лизин, метионин и треонин, она была выше. В сравнении с контролем достоверный рост активности амилазы в подопытных группах птицы отмечался на 40-е сутки на 25,9 % ($p < 0,01$) и 55-е – на 18,4 % ($p < 0,01$). По нашему мнению, этот факт может свидетельствовать о том, что активность фермента увеличивается за счет повышения его синтеза в ткани поджелудочной железы.

Активность липазы химуса 12-перстной кишки в начале исследования не имела существенных расхождений в обеих группах перепелов и увеличивалась в течение эксперимента (таблица 3). На 25-е и 40-е сутки липолитическая активность содержимого 12-перстной кишки подопытной группы была несколько выше в сравнении с контролем, но эта разница была не достоверной и только на 55-ые сутки активность этого фермента в дуоденальном содержимом перепелов, которым скармливали комплекс незаменимых аминокислот, была достоверно выше на 13 % ($p < 0,05$).

Таблица 3 – Липолитическая активность тканей органов пищеварения перепелов, мкмоль/ г*год, $M \pm m$, $n = 6$

Показатели	Группы	Возраст перепелов, суток			
		10	25	40	55
Дуоденальное содержимое	Контрольная	19,5±1,4	23,4±1,2	42,8±0,59	42,1±1,14
	Подопытная	20,1±1,6	25,6±1,18	45,6±1,63	48,1±1,65*
Слизистая оболочка 12-перстной кишки	Контрольная	20,2±1,1	19,11±1,2	29,6±0,97	21,6±2,04
	Подопытная	21,3±1,2	19,93±0,56	32,0±1,68	24,1±1,79
Поджелудочная железа	Контрольная	22,4±1,5	24,3±1,2	53,0±0,67	54,2±2,01
	Подопытная	24,1±1,3	28,6±1,13	57,6±1,1*	61,7±2,3**

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

При исследовании органов пищеварения, нами установлена тенденция к росту активности липолитических ферментов слизистой оболочки 12-перстной кишки на 25-, 40- и 55-е сутки эксперимента у перепелов, которым скармливали комплекс аминокислот до 19,93±0,56, 32,0±1,68, 24,1±1,79 мкмоль/г*год. Во время проведения эксперимента мы также отмечали достаточно высокую липолитическую активность ткани поджелудочной железы в сравнении с активностью этого фермента в химусе и слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки. У перепелов подопытной группы она была достоверно выше на 40-ые сутки на 7,9 % ($p < 0,05$) и в 55-ые – на 12,1 % ($p < 0,01$). Очевидно это может свидетельствовать о том, что добавление к рациону комплекса аминокислот влияет на биосинтез и активность липолитических ферментов тканей органов пищеварения перепелов.

Определение переваримости питательных веществ корма и изучение характера обменных процессов в организме птицы является одним из важных методов оценки применения различных биологически активных добавок в ее рационах. Степень обеспечения птицы питательными веществами, кроме наличия их необходимого количества в рационе, определяется также уровнем пищеварения и усвоения в организме. Поэтому, в значительной степени, объективную оценку значению аминокислот в процессах функционирования органов пищеварения можно дать, основываясь на исследовании переваримости питательных веществ в организме перепелов (таблица 4).

Таблица 4 – Коэффициенты переваримости питательных веществ рациона, %

Группы	Органическое вещество	Протеин	Жир	Клетчатка	БЕВ
Контрольная	76,5±1,5	80,1±1,5	77,0±1,5	6,1±0,3	76,1±1,2
Подопытная	82,4±1,4*	85,3±1,3*	80,3±1,7	6,05±0,5	76,9±1,6

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

Анализируя данные таблицы 4, необходимо отметить, что у птицы подопытной группы переваримость питательных веществ рациона улучшилась по сравнению с перепелами контрольной группы. В частности, коэффициент переваримости органических веществ увеличился на 5,9 % ($p < 0,05$), а протеина на 5,2 % ($p < 0,05$). По переваримости жира, клетчатки и БЕВ наблюдалась лишь тенденция к повышению этих показателей в подопытной группе.

Таким образом, в результате проведенного физиологического эксперимента установлено положительное влияние лизина, метионина и треонина на переваримость питательных веществ корма, их лучшее усвоение организмом птицы и активное использование для нормального роста и развития. Можно высказать предположение, что в основе таких изменений лежит повышение активности пищеварительных ферментов содержимого слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и поджелудочной железы относительно составных частей корма.

Заключение. Результаты наших исследований свидетельствуют, что добавление к рациону перепелов комплекса аминокислот (лизину, метионину, треонину) способствует росту активности ферментов

химуса, слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки и ткани поджелудочной железы, что обеспечит лучшее переваривание и усвоение питательных веществ корма и его последующее использование в качестве пластического материала во время роста и развития перепелов. Вместе с тем, необходимо отметить возращение активности исследованных пищеварительных ферментов у перепелов с увеличением их возраста.

Литература. 1. Azzam M. The effect of supplemental l-threonine on laying performance, serum free amino acids, and immune function of laying hens under high-temperature and high-humidity environmental climates / M. M. Azzam, X. Y. Dong, P. Xie [et al] // J. Appl. Poult. Res. – 2011. – V. 20. – P. 361–370. 2. Порошинська О. А. Застосування незамінних амінокислот при вирощуванні різних видів тварин / М. П. Ніцменко, М. М. Саморай, О. А. Порошинська // Науково-техн. бюлетень Інституту біології тварин ДНДКІ ветпрепаратів та корм. добавок. – 2012. – № 13. – С. 437–443. 3. Nitsan, Z., G. Ben-Avraham, Z. Zoref, and I. Nir. 1991a. Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. Br. Poult. Sci. 32:515–523 4. Obst, B. S., and J. Diamond. 1992. Ontogenesis of intestinal nutrient transporters in domestic chickens and its relation to growth. Auk 109:451–464 5. Dandriofosse G. Influence du regime alimentaire sur les proprietes eata lytiques de α -amylase pancreatique // Arch. int. physiol. et biochim. – 1970. – V. 78, №2.-P. 347-355. 6. Уголев А. М. Организация процессов мембранного пищеварения и транспорта // Физиол. ж. СССР. – 1970. – Т. 56, № 4. – С. 651-662. 7. Способ определения активности протеиназ: А.с. 397843 СССР./ К.А. Калуняц, Р.Н. Нребешова, Л.М. Лупова, Л.Г. Федерова. – 1973. – 4с. 8. Біохімічні методи дослідження крові тварин: метод. рекомендації для лікарів хіміко-токсикологічних відділів деож. лабор. вет. медицини України, слухачів факультетів підвищ. кваліфікації та студентів фак. вет. медицини / В.І. Левченко, Ю.М. Новожицька, В.В. Сахнюк та ін. – Київ, 2004. – 104 с. 9. Петрова Л. К изучению липазы микроорганизмов / Л. Петрова, Г. Казакая, А. Селезнева // Прикладная биохимия и микробиология. – 1977. – Т. 13, вып. 4. – С. 521–529. 10. Ніцменко М.П. Фізіолого-біохімічне обґрунтування використання амінокислот та препарату Мікорм для підвищення продуктивності тварин: автореф. дис. д-ра. вет. наук: спец. 03.00.13 «фізіологія людини і тварин» / М.П. Ніцменко. – Київ, 2006. – 40 с. 11. Захаренко М.О., Шевченко Л.В., Поляковський В.М., Михальська В.М. Ферментативна активність слизової оболонки дванадцятипалої кишки та концентрація міді у тканинах курчат-бройлерів за дії метіонату, гліцинату та лізинату міді // Науковий вісник Львівської національної акад. ветмедицини ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2004. – Т.6 (№2). – С.102–107

Статья передана в печать 22.04.2015 г.

УДК 619:618.4/5–084:632

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАННЕЙ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ КОРОВ С СИМТОМОКОМПЛЕКСОМ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ПРОГНОЗА ОТНОСИТЕЛЬНО ТЕЧЕНИЯ РОДОВ И ПОСЛЕРОДОВОГО ПЕРИОДА

*Ордин Ю.Н., **Краевский А.И.

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

**Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

В результате проведенного прогнозирования клинического состояния здоровья коров во время сухостоя, родов и в послеродовом периоде на основании данных полученного прогноза, животным с показателями неблагоприятного прогноза в перечисленные периоды репродуктивного цикла, применяли то или иное комплексное медикаментозное лечение в итоге, которое дало положительный лечебно-профилактический эффект. У животных, подвергшихся лечению, достоверно ($P < 0,05–0,001$) меньше было отмечено патологических состояний во время родов, в послеродовом периоде, а также были минимальными размеры бесплодия.

As a result of the parturition forecasting of a clinical state of the healthy cows during the dry period and in puerperal on the basis of the received forecast data, an animal with indicators of the adverse forecast during the listed periods of a reproductive cycle were applied proper mediamentous treatment that gave positive treatment-and-prophylactic effect. Animals that undergivent treatment vividly ($P < 0,05 – 0,001$) were having less pathological conditions during parturition in the postnatal period, and also there were smaller sizes of infertility.

Введение. Выяснению причин бесплодия и разработке методов его профилактики с целью интенсификации воспроизводства стада крупного рогатого скота были посвящены многочисленные научные труды (Буданцев А.И., 1994; Власенко В.В., 1995; Краевский А.И. с соавт., 2000; Нежданов А.Г. с соавт., 2003). Основой планового ведения скотоводства является контроль и прогнозирование воспроизводительной функции (Харута Г.Г., 1999, 2009). Значение прогнозирования заключается в обосновании ранней профилактики болезней и сохранении репродуктивной функции. Но ранняя профилактическая терапия становится реальной лишь тогда, когда она обоснована прогнозом. Следствием прогноза должна быть коррекция кормления, содержания, лечения, применения новейших технологий, и тому подобное.

Однако, много вопросов, связанных с прогнозированием вероятности возникновения акушерских и гинекологических болезней и бесплодия остаются еще не до конца выясненными, что тормозит работу с повышения эффективности использования репродуктивного потенциала животных.

Принимая во внимание выше изложенное, целью работы было определение эффективности ранней профилактической терапии высокопродуктивных коров с клиническими симптомами неблагоприятного прогноза относительно течения родов и послеродового периода.

Для достижения цели работы были поставлены задачи исследования:

1. Изучить влияние коррекции обмена веществ медикаментозными препаратами у коров во время сухостоя на распространенность патологий родов.
2. Установить эффективность метафилактического лечения коров после родовспоможения, рождении мертвых телят и задержании последа, а также после проявления признаков субинволюции матки и метрита.

3. Доказать, что у коров, которые получили лечебные процедуры во время сухостоя, родов и в послеродовом периоде, уменьшается частота проявления ряда гинекологических болезней и увеличивается оплодотворяемость.

Материал и методы исследований. Материалом исследования были 220 коров голштинской и чернопестрой пород с симптомами неблагоприятного прогноза относительно течения родов и послеродового периода и производительностью 8 тыс. кг молока за лактацию. Животные были разделены на две группы. В первой группе коровам применяли профилактическое лечение за 60–45 дней до родов, во время родов и в послеродовом периоде, а во второй (контроль) – животных лечили традиционным в хозяйстве способом после проявления симптомов акушерской патологии.

Клиническое исследование животных проводили: во время стельности, за 60–45 дней до планируемых родов (после общего клинического исследования определяли линейную деформацию последних хвостовых позвонков, состояние ребер, молочной железы, упитанность, наличие ортопедической патологии), во время родов (оценивали течение родов, упитанность, состояние конечностей и новорожденных), в послеродовом периоде (контролировали инволюцию половых органов, половую цикличность, упитанность, болезни полового аппарата и конечностей). В зависимости от результатов клинического исследования составляли прогноз относительно течения родов и послеродового периода, а после этого назначали профилактическое лечение.

1. Составление прогноза относительно течения родов и послеродового периода в первые 10–15 дней сухостоя.

Благоприятный (С+): линейная деформация последних хвостовых позвонков при умеренном сжатии до 5 мм; поверхность последней пары ребер гладкая; молочная железа при осмотре, пальпации и визуальной оценке секрета без патологических изменений; ортопедическая патология отсутствует; упитанность 3,0–3,5 балла.

Неблагоприятный (Н-): линейная деформация последних хвостовых позвонков больше 5 мм; поверхность последних ребер бугристая или в состоянии рассасывания; воспаление молочной железы; болезни конечностей и упитанность менее 3,0 или больше 3,5 баллов.

Группе животных с показателями неблагоприятного прогноза, сразу же после установления диагноза внутримышечно вводили 20 мл тетравита, три раза с интервалом 7–10 дней; подкожно – 25 мл 0,2 %-го раствора натрия селенита, один раз и внутримышечно – 10 мл тканевого препарата печени крупного рогатого скота, четыре раза с интервалом 7 дней.

2. Составление прогноза по показателям течения родов.

Благоприятный (С+): роды без родовспоможения; новорожденный живой, жизнеспособный, массой 25–40 кг, имеет 6–8 резцов, в течение 30–60 минут самостоятельно поднялся и проявил рефлекс сосания; упитанность коровы 3,0–3,5 балла при отсутствии ортопедической патологии.

Неблагоприятный прогноз (Н-) с угрозой в 75–100 % животных возникновения задержания последа, субинволюции и метрита: при рождении мертвого плода, гипотрофика, урота и двойня; после родовспоможения и травмировании родовых путей; при болезнях конечностей и упитанности менее 3,0 или больше 3,5 баллов.

Сразу же после родовспоможения выполняли: внутривентральное введение 10 мл 10 %-ного раствора новокаина, внутриматочное – 2 таблеток утракура, внутривенное – 200 мл 10 % раствора хлористого кальция и 200 мл 40 % раствора глюкозы, а также внутримышечную инъекцию 2 мл эстрофана.

При задержании последа оперативное его отделение через: 24 часа (при температуре окружающей среды +18° С и больше) или через 48 часов (при температуре окружающей среды меньше +18° С). После отделения последа: применяли внутривентральное введение 10 мл 10 %-го раствора новокаина, внутриматочное – двух таблеток утракура и внутримышечное – 5 мл фолликулина, 20 мл катозала и 50 ЕД окситоцина.

При остром послеродовом метрите: проводили внутривентральное введение 10 мл 10 %-ного раствора новокаина, внутриматочное – 200 мл 20 %-го водного раствора изатизона, внутримышечное – 20 мл икгликовита. Повторное применение препаратов проводили через 48 часов до выздоровления животного.

В случаях заболевания хроническим метритом: использовали внутривентральное введение 10 мл 10 %-го раствора новокаина, внутримышечно вводили 20 мл энгомицина и внутриматочное – 200 мл 20 %-го водного раствора изатизона. Повторное введение препаратов проводили через 48 часов до полного исцеления животного.

Подготовку коров к осеменению проводили на 30–35 день после отела. Для этого применяли внутримышечное введение 20 мл тканевого препарата печени крупного рогатого скота. Стимуляцию стадии возбуждения полового цикла проводили на 40–45 день после отела при индивидуальных диагнозах по схеме: в день установления диагноза вводили гонадотропин рилизинг-гормон, на седьмой день после установления диагноза использовали простагландин F2α, на девятый день – рилизинг-гормон, на десятый день – проводили осеменение и через 7–8 дней после осеменения вводили прогестерон (Харута Г.Г. с соавт., 2009).

Результаты исследований. Результаты эффективности применения медикаментозных препаратов коровам с симптомами неблагоприятного прогноза за 60–45 дней до планируемых родов, во время родов и в послеродовом периоде представлены в таблице 1.

Из данных таблицы 1 видно, что у значительной части животных контрольной группы, профилактическое лечение которым не было применено во время сухостойного периода, регистрировались родовые, послеродовые и ортопедические патологии. Коррекция обмена веществ медикаментозными препаратами у опытной группы коров вызывала (в сравнении с контрольной группой подопытных животных) уменьшение на 26,0 % ($P < 0,01$) количества патологий второй стадии родов, на 6,5 % ($P < 0,05$) рождение мертвых плодов и на 31,1 % ($P < 0,001$) задержание последа.

Применения профилактического лечения коровам после оказания родовспоможения, рождения мертвых плодов и задержанием последа также уменьшало на 24,6 % ($P < 0,01$) в послеродовом периоде проявление симптомов субинволюции матки, на 24,8 % ($P < 0,01$) – острого и на 8,0 % ($P < 0,05$) подострого метрита.

Таблица 1 – Показатели эффективности профилактики акушерских и гинекологических болезней у коров

Показатель	Группа животных				P <
	Опытная		Контрольная		
	п	%	п	%	
Течение родов:					
Отелилось коров	195	100	25	100	–
из них: родили мертвых телят	3	1,5	2	8,0	0,05
с патологиями второй стадии родов	59	30,3	14	56,0	0,01
с задержанием последа	33	16,9	12	48,0	0,001
с болезнями конечностей	8	4,1	3	12,0	0,05
с упитанностью < или > 3–3,5 баллов	121	62,0	17	68,0	0,5
Послеродовой период:					
субинволюция матки	30	15,4	10	40,0	0,01
острый метрит	7	3,6	8	32,0	0,01
подострый метрит	0	0	2	8,0	0,05
хронический метрит	0	0	1	4,0	0,5
Гинекологические болезни:					
хронический метрит	2	1,0	2	8,0	0,05
субклинический метрит	1	0,5	1	4,0	0,5
гипофункция яичников	39	20,0	9	36,0	0,05
гипоплазия яичников	9	4,6	4	16,0	0,05
персистентное желтое тело	41	21,0	8	32,0	0,05
киста	22	11,3	3	12,0	0,5
склероз яичников	1	0,5	1	4,0	0,5
атония матки	35	17,9	9	36,0	0,01
новообразования матки	2	1,0	0	0	0,5
вестибулит, вагинит	6	3,0	3	12,0	0,05
Проявили половую цикличность за 90 дней	179	91,8	18	72,0	0,01
Оплодотворилось за 90 дней	154	78,9	16	64,0	0,05
Инпеданс период	36,6 ± 5,3		66,2 ± 7,7		0,01
Интервал от отелу до оплодотворения	52,0 ± 7,1		79,0 ± 8,2		0,05
Дней бесплодия, M ± m	32,0 ± 4,3		57,0 ± 6,3		0,05
Индекс осеменения	1,4		2,3		–

Профилактическое лечение подопытных животных во время сухостоя, родов и в послеродовом периоде достоверно уменьшило частоту проявления ряда гинекологических патологий. Среди нами указанных животных на 7,0 % (P < 0,05) было меньше больных хроническим метритом, на 16,0 и 11,6 % (P < 0,05) соответственно – гипофункцией и гипоплазией яичников, а также на 11,0 % (P < 0,05) – с персистенцией желтого тела и на 18,1 % (P < 0,01) – с атонией матки.

Известно, что родовые и послеродовые болезни негативно влияют на проявление воспроизводительной функции, а это ведет к возникновению анафродизии и бесплодия. Полученные нами данные, при следующем наблюдении за подопытными и контрольными животными, подтвердили эту закономерность.

Так за 90 дней наблюдения за животными после родов лишь 72,0 % коров контрольной группы проявили половую цикличность. За 90 дней опыта первое осеменение проводилось в среднем через 66,2 дня.

Значительно лучше проявили половую цикличность коровы, которым было применено профилактическое лечение. Благодаря этому в 91,8 % животных было зарегистрировано проявление половой цикличности, что почти на 20 % больше в сравнении с контролем. Таким образом, наилучшая реализация воспроизводительной функции была у коров, которые получили лечебные процедуры вовремя сухостоя, родов и в послеродовом периоде: за 90 дней наблюдения после отёла оплодотворилось 78,9 % (P < 0,05) животных, продолжительность бесплодия составила 32,0 (P < 0,05) дня, а индекс осеменения – 1,4.

Закключение. 1. Коррекция обмена веществ медикаментозными препаратами у подопытных коров во время сухостоя способствовала уменьшению на 26,0 % (P < 0,01) распространенности патологий второй стадии родов, на 6,5 % (p < 0,05) рождения мертвых телят и на 31,1 % (p < 0,001) задержание последа.

2. Применения профилактического лечения коровам после родовспоможения, при рождении мертвых телят и с задержанием последа также способствовало уменьшению на 24,6 % (P < 0,01) в послеродовом периоде проявление признаков симптомов субинволюции матки на 24,8 % (P < 0,01) острого и на 8,0 % (P < 0,05) подострого метрита.

3. Профилактическое лечение подопытных коров во время сухостоя, родов и в послеродовом периоде достоверно (p < 0,05–0,01) уменьшило частоту проявления ряда гинекологических болезней.

4. Наилучшая реализация воспроизводительной функции была у коров, которые получили лечебные процедуры во время сухостоя, родов и в послеродовом периоде: за 90 дневной срок наблюдений после отёла оплодотворилось 78,9 % (P < 0,05) животных, продолжительность бесплодия составила 32,0 (P < 0,05) дня, а индекс осеменения – 1,4.

Перспективным направлением последующих исследований будет коррекция кормления, ухода, лечения, применения новейших технологий, и тому подобное.

Литература 1. Буданцев А.И. Прогнозирование и фармакопрофилактика болезней родов и послеродового периода у коров / А.И. Буданцев // Материалы Всерос. науч. и учебн. – метод. конф. по акушерству, гинекологии и биотехнике размножения животных (25 – 27 октября 1994., г. Воронеж). – Воронеж, 1994. – С. 34 – 35. 2. Власенко В.В.

Прогнозування і контроль перебігу родів і післяродового періоду у корів / В.В. Власенко // Матеріали наук. – практ. конф. з неінфекційної патології тварин. – Біла Церква, 1995. – Ч. 2. – С. 14 – 15. 3. Краєвський А.Й. Профілактика акушерських патологій у корів [А.Й. Краєвський, М.В. Вельбівець, Ю.М. Ордін та ін.] Методичні рекомендації для лікарів ветеринарної медицини / Білоцерківський держ. аграр. університет – Біла Церква, 2000. – 14 с. 4. Нежданов А.Г. Восстановление плодovitости коров при гипофункции яичников / А.Г. Нежданов, К.А. Лободин, Н.Е. Богданов // Ветеринария. – 2007. – № 7. – С. 39–45. 5. Харута Г.Г. Прогнозування відтворної функції корів / Г.Г. Харута // – Біла Церква, 1999. – 94 с. 6. Харута Г.Г. Прогнозування затримання посліду субінволюції і ендометриту в корів та методи їх профілактики / Г.Г. Харута, Ю.М. Ордін, Б.П. Івасенко // Аграрні вісті. – 2002. – № 1. – С. 31. 7. Харута Г.Г. Стимуляція і синхронізація статевіої циклічності у корів та методи підвищення заплідненості / Г.Г. Харута, С.С. Волков, В.В. Власенко, В.В. Лотоцький [та ін.] // Методичні рекомендації для лікарів ветеринарної медицини. Біла Церква, 2009. – 21 с.

Статья передана в печать 13.03.2015 г.

УДК 619:618.3:615-2:636.1

СОДЕРЖАНИЕ ПРОГЕСТЕРОНА И ЭСТРАДИОЛА -17 β В ТЕЧЕНИЕ ПОЛОВОГО ЦИКЛА У КОБЫЛ

*Подвалюк Д.В., **Подвалюк Ю.Д.

*Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Киевская область, Украина,

**Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

Изучена динамика прогестерона и эстрадиола в течение полового цикла, которая раскрывает роль этих стероидов в формировании отдельных его стадий и может использоваться в качестве теоретической основы для регуляции воспроизводительной функции у кобыл. Исследования будут способствовать выявлению на ранних стадиях нарушений функционального состояния половых гонад у животных в период их репродуктивного цикла и как следствие, – предотвращению проявления болезней половых органов и бесплодия.

There were studied the dynamics of progesterone and estradiole during the reproductive cycle in mares. The study revealed the role of steroids in the formation of the separate steps of the circle. The obtained results can be used as a theoretical basis for the regulation of the reproductive functions in mares. The research will contribute to the identification of sexual dysfunction conditions of gonads in mares during their reproductive cycle on the early stages and as a consequence – the prevention of diseases of the genital organs and infertility.

Ключевые слова: эстрогены, прогестерон, половой цикл, кобылы, овуляция, желтое тело, фолликулы, овогенез, лютеогенез, фолликулогенез.

Keywords: estrogen, progesterone, reproductive circle, mares, corpus lutei, follicles, ovariogenesis, luteogenesis, folliculogenesis.

Введение. Эстрогены способствуют возникновению половой доминанты у самок, что сопровождается проявлением феноменов стадии возбуждения полового цикла. Повышение уровня эстрогенов перед половой охотой и в ее начале вызывает переориентацию функции гипоталамуса и подготовку к овуляции. Эстрогены повышают чувствительность фолликулярных клеток к ЛГ [1].

На волновой характер роста фолликулов у кобыл и секрецию большого количества эстрогенов на 10, 20 и 30-й дни после овуляции указывает ряд авторов [2]. Уровень эстрогенов постепенно повышается от 6-х до 10-х суток, достигая максимума за 24-28 часов до овуляции. Но многие исследователи [3,4] указывают, что существуют значительные индивидуальные особенности у этого вида животных относительно пика стероидных гормонов к времени овуляции.

Прогестерон принимает участие не только в подготовке матки к беременности (превращение эндометрия из пролиферативного в секреторный), но и в процессах: овогенеза, эмбриогенеза. Кроме того, он играет важную роль в продвижении зиготы и эмбриона по яйцеводу в рог матки, вживлении эмбриона в слизистую оболочку и трансплацентарных взаимоотношениях плода с материнским организмом. Прогестерон уменьшает чувствительность миометрия к гормонам, в частности к окситоцину, химическим факторам и механическому взаимодействию, которое способствует его гипертрофии, обеспечивая рост и развитие плода. Отмеченный стероидный гормон тормозит развитие фолликулов и овуляцию, а также содействует развитию альвеолярной системы вымени. Кроме этого, он выступает как супрессор, который обеспечивает иммунологическую толерантность в системе мать–плод. Относительно концентрации в крови кобыл прогестерона ряд ученых [3] отмечают – значение этого гормона заключается в формировании рецепторов к ФСГ в фолликулах. Концентрация прогестерона в плазме крови кобыл через 24-48 часов после овуляции составляла 2-4 нг/мл, на 6-е сутки – 5-15 нг/мл. Регистрировали, что уровень этого гормона в фазу желтого тела колебался от 3 до 20 нг/мл [4]. Установлено, что секреция прогестерона у жеребых и бесплодных кобыл изменяется через 13-16 дней после овуляции, сообщает Л. Храброва [5].

Прогенеролон и прогестерон в результате гидроксигирования превращаются в андрогены: андростендион, тестостерон и дегидроэпиандростерон. В яичниках образуются такие андрогены: андростендион, тестостерон и эпитестостерон. Их выделяют клетки соединительной ткани, внутренней оболочки фолликулов и клетки ворот яичника. В организме самок андрогены принимают участие в регуляции белкового, жирового, минерального и водного обмена, влияют на функцию нервной и половой систем (поддерживают либидо). В коже млекопитающих под их влиянием происходит пролиферация эпителия сальных желез, стимулируется функция производящих телергоны апокринных желез. Андрогены вызывают

утолщения мускульного слоя и эндометрия матки. Кроме этого, они тормозят лактацию у млекопитающих. Ановуляция может возникать при низком содержимом тестостерона и андростерона, которые синтезируются не только в яичниках, но и в надпочечниках [6].

Учитывая выше изложенное и то, что на сегодня слабо раскрыты гормональные механизмы регуляции половой цикличности кобыл и особенно роль стероидных гормонов в этих процессах, был проведен опыт по определению динамики половых гормонов - прогестерона и эстрадиола-17 бета в течение полового цикла у животных.

Материал и методы исследований. От подопытных кобыл кровь для исследований брали из яремной вены в течение половой охоты и через 2, 6-8, 11-14 и 15-17 суток после ее окончания. Содержание гормонов в плазме крови определяли радиоиммунологическим методом.

Результаты исследований. Данные наших исследований относительно уровня стероидных гормонов в плазме крови кобыл в течение полового цикла представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание прогестерона и эстрадиола-17 бета в плазме крови кобыл в течение полового цикла (n=6)

Период исследования	Прогестерон, нмоль/л		Эстрадиол-17 бета, нмоль/л	
	M±m	Lim	M±m	Lim
1	2	3	4	5
Начало половой охоты (Ф ₁ , Ф ₂)	3,91±0,80*	1,56–6,39	0,160±0,023	0,09–0,23
Середина и конец половой охоты(Ф ₃ ,Ф ₄)	2,96±1,12	0,41–7,16	0,098±0,018	0,06–0,17
Через 12 часов после овуляции	2,39±0,44**	1,88–3,81	0,087±0,012*	0,05–0,12
На 2 сутки полового цикла	5,79±0,92	2,96–8,50	0,047±0,012**	0,02–0,09
На 6–8 сутки полового цикла	12,07±2,15	6,20–19,18	0,040±0,008***	0,02–0,07
На 11–14 сутки полового цикла	13,45±3,26	5,79–25,44	0,096±0,015	0,05–0,14
На 15–17 сутки полового цикла	10,21±1,40	6,04–13,35	0,058±0,017**	0,02–0,12

Примечание: 1. * – P<0,05, ** – P<0,01 относительно показателя на 11–14 сутки после овуляции;

2. * – P<0,05, ** – P<0,01, *** – P<0,001 относительно показателя начала половой охоты

Как видно из данных таблицы 1, в начале половой охоты, когда везикулярные фолликулы в яичниках кобыл были на первой и второй степенях развития, концентрация прогестерона составляла лишь 29 % (P<0,05) от такой на 11-14 сутки полового цикла, что предопределено слабой функциональной активностью желтых тел. В середине и конце половой охоты при третьей и четвертой степенях развития фолликулов уровень прогестерона снижался на 24 %, в сравнении с ее началом, но на 80 % (P<0,05) был меньше, чем на 11-14 сутки. Установленное может свидетельствовать о том, что в этот период лютеоциты желтых тел находились в состоянии лизиса.

Данные наших исследований показывают, что через 12 часов после овуляции концентрация прогестерона у крови кобыл была меньшей почти на 40 и 82 % (P<0,001), чем в начале половой охоты и на 11-14-е сутки после овуляции. Ввиду этого можно утверждать, что после овуляции гормонсинтезирующая функция желтых, атретических тел и тека-лютеиновых клеток недостаточно выражена.

Через 2 суток после овуляции содержание прогестерона в крови кобыл увеличивалось на 59 %, в сравнении с предыдущим показателем, но он был на 57 % (P<0,05) меньше, чем на 11-14-е сутки полового цикла. Повышение содержания в крови кобыл отмеченного стероидного гормона свидетельствовало о морфологической и соответственно функциональной зрелости лишь некоторых лютеоцитов. На 6-8-е сутки полового цикла концентрация прогестерона повышалась вдвое (P<0,05), в сравнении с показателем вторых суток, что указывало на рост функциональной активности как желтых тел, так и дифференцированных интерстициальных клеток яичников.

Полученные результаты дают возможность утверждать, что пик уровня прогестерона регистрировался на 11-14-е сутки полового цикла. В этот период его показатель был большим на 9,54 (P<0,05), 10,49 (P<0,05), 11,06 (P<0,001), 7,66 (P<0,05) и 1,38 нмоль/л, чем в начале, по середине и в конце половой охоты, через 12 часов, 2 и 6-8 суток после овуляции соответственно. На 15-17-е сутки после овуляции концентрация прогестерона снизилась на 24 %, в сравнении с 11-14-ми сутками, что указывало на начало инволюционных процессов в лютеоцитах.

Из данных таблицы 1 видно, что самая низкая концентрация прогестерона отмечалась в течение половой охоты и через 12 часов после овуляции, начиная со вторых суток она возрастала до 14-х и незначительно снижается на 15-17-е сутки, что предопределено разной функциональной возможностью как желтых тел, так и других стероидопродуцирующих структур половых желез. Относительно концентрации в крови кобыл эстрадиола, то он был наивысшим в начале половой охоты, что предопределено высокой эстрогенсинтезирующей функцией гранулезных и текальных клеток фолликулов. В середине и в конце половой охоты в результате десквамации фолликулярных клеток, содержимое эстрадиола уменьшалось на 39 %. Через 12 часов после овуляции его уровень был меньшим на 46 % (P<0,05), а через 2 суток - на 71 % (P<0,001), чем в начале половой охоты, что обусловлено лютеинизацией и атрезией фолликулов и фолликулярных клеток.

На 6-8-е и на 11-14-е сутки после овуляции концентрация эстрадиола была меньшей на 75 % (P<0,001) и 40 %, сравнительно с началом половой охоты. Следует отметить, что на 11-14-е сутки полового цикла уровень этого гормона увеличивался на 58 % (P<0,05), в сравнении с 6-8-ми сутками, который может указывать на начало роста и развития новой волны фолликулов. На 15-17-е сутки полового цикла обнаружили снижения уровня эстрадиола на 40 % и 64 % (P<0,01), чем на 6-8-е сутки и в начале половой охоты, который может свидетельствовать об атрезии мелких везикулярных фолликулов с образованием атретических желтых тел. В то же время мы допускаем мысль, что атретические желтые тела, выделяя незначительное количество

прогестерона, стимулируют развитие фолликулов, которое предопределяет наступление следующего полового цикла. Данные относительно соотношения содержания прогестерона и эстрадиола отображены в диаграмме 1.

Из представленных данных в рисунке 1 видно, что наибольшая разница в соотношении гормонов в крови кобыл наблюдается на 6-8-е и на 15-17-е сутки полового цикла, тогда как в начале, середине и в конце половой охоты этот показатель колебался от 24:1 до 30:1. В частности начиная со вторых суток полового цикла П:Е соотношение возросло в 5 раз, пик которого наступал на 6-8-е сутки, потом снижался больше чем в 2 раза на 11-14-е и опять возрос на 15-17-е сутки. Результаты исследований указывают на то, что соотношение гормонов зависело от физиологического периода полового цикла.

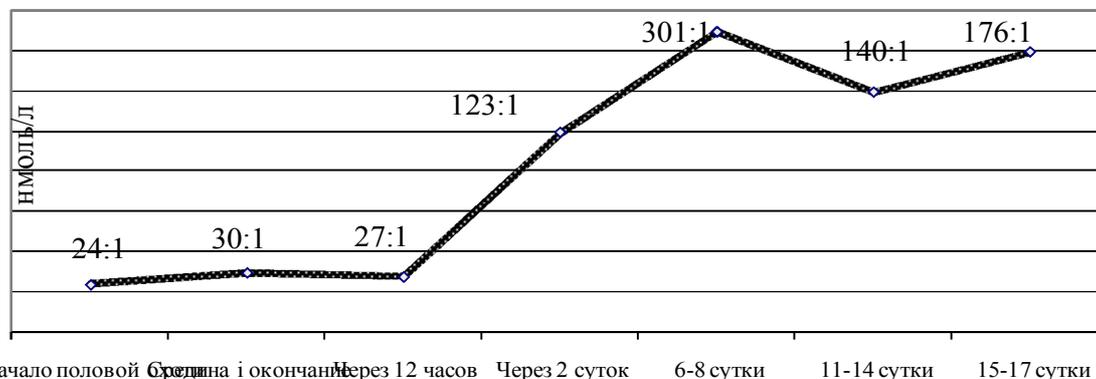


Рисунок 1 – Динамика прогестерона и эстрадиола в течение полового цикла

На наш взгляд, суть одного из звеньев регуляции половой цикличности заключается в том, что прогестерон, по принципу обратной связи, тормозит секрецию Гн-РГ гипоталамусом и ЛГ гипофизом и стимулирует выделение ФСГ. Последний стимулирует рост и развитие фолликулов, которые начинают выделять большое количество эстрогенов, а они в свою очередь усиливают простагландинсинтезирующую функцию матки и влияют на инволюцию желтых тел. Поэтому на 15-17-й день полового цикла уровень прогестерона снизился на 24 %, что указывает на начало регрессии лютеоцитов желтых тел.

Заключение. Таким образом, изученная динамика прогестерона и эстрадиола в течение полового цикла раскрывает роль этих стероидов в формировании отдельных его стадий и может использоваться в качестве теоретической основы для регуляции воспроизведенной функции у кобыл при болезнях яичников.

На наш взгляд, суть преобразования прогестерона происходит по принципу обратной связи, -тормозится секреция Гн-РГ гипоталамусом и ЛГ гипофизом стимулируется выделение ФСГ. Последний начинает секрецию большого количества эстрогенов, которые усиливают простагландин-синтезирующую функцию матки и влияют на инволюцию желтых тел. В связи с этим на 15–17-й день полового цикла концентрация прогестерона снизилась на 24 %, что в свою очередь указывает на начало регрессии лютеоцитов желтых тел.

Литература. 1. Смоленская-Суворова О. Жеребенок: тайна рождения / О. Смоленская-Суворова // Золотой мустанг. – 2002. – N 2. – С. 67–69. Шифр П 3282 200. 2. Meira C. Hormonal causes of functional disorders of reproduction in the non-pregnant mare: Their diagnosis and treatment / C. Meira, C. Laceda, J.C. Neto // Ars – Veterinaria. – 1994. – Vol. 10, № 2. – P. 46–55. 3. Fitzgerald B.P. Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare / Fitzgerald B.P., McManus C.J. // Biol. Reprod. – 2000. – Vol. 63. – № 1. – P. 335–340. 4. Control of follicular development and luteal function in the mare: effects of a GnRH antagonist / E.D. Watson, H.G. Pedersen, S.R. Thomson et al. // Theriogenology. – 2000. – Vol. 54. – № 4. – P. 599–609. 5. Подвалюк Д.В. Морфофункциональная характеристика яичников кобыл и совершенствование методов гормональной регуляции их половой функции: Автореф. дис. ... канд. вет. наук / Д.В. Подвалюк. – Воронеж, 1992. – 23 с. 6. Bergman H.J. The problem mare part 2: treatment / H.J. Bergman, A.T. Kruff // Tijdschr. Diergeneesk. – 2005. – Vol. 125. – № 12. – P. 381–387.

Статья передана в печать 10.03.2015 г.

УДК 636.2.084.41

ГУМАТ НАТРИЯ В РАЦИОНАХ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*Радчикова Г.Н., *Цай В.П., *Кот А.Н., *Сапсалева Т.Л., ** Возмитель Л.А., ***Люддышев В.А.

*РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь,

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

*** УО «Белорусский государственный аграрный технологический университет», г. Минск, Республика Беларусь

Скармливание кормовой добавки из расчета 0,4-0,5 мл/кг живой массы телятам (живая масса 50-104 кг) активизирует окислительно-восстановительные процессы в организме, что приводит к повышению

среднесуточных приростов на 6,0-8,0% и снижению затрат кормов на 4,5-5,6%. Прибыль от снижения себестоимости прироста повышается на 7-9%.

Feeding calves with feed additive calculated per 0.4-0.5 ml/kg of body weight (50-104 kg of live weight) activates the redox processes in the body, which leads to increased average daily weight gain by 6.0-8.0% and decrease of feed costs by 4.5-5.6%. The profit due to weight gain decrease increases by 7-9%.

Ключевые слова: рационы, молодняк крупного рогатого скота, гуматы.

Keywords: diets, young cattle, humates.

Введение. Продуктивность животных определяется уровнем и направленностью у них процессов обмена веществ и энергии, постоянно протекающих в их организме. Повысить интенсивность роста, улучшить оплату корма позволяет использование биологических препаратов, витаминов, солей микроэлементов, аминокислот, ферментов, антибиотиков, гормональных и тканевых препаратов. Их применением можно существенно изменить обмен веществ, координировать физиологические процессы, активизировать защитные реакции в организме животных и, в конечном счете, определенным образом влиять на их рост и продуктивность.

Сапропель – вещество биогенного происхождения, образующееся главным образом за счет живущих в воде животных и растительных организмов при активном воздействии микроорганизмов, он сохраняет в своем составе многие присущие им биологически активные соединения органической и минеральной природы, а также содержит специфические продукты их гумификации – гуминовые вещества.

Использование сапропеля в качестве компонента комбикорма, как витаминно-минерального комплекса очевидно. Дефицит рационов по ряду минеральных и биологически активных элементов может быть восполнен за счет сапропелей. Возникший как данное отложение пресноводных озер сапропель сконцентрировал целый комплекс природных биологически активных веществ, необходимых животному, присутствующих в сбалансированных количествах и доступных организму формам. Органическое вещество сапропелей содержит необходимые животным аминокислоты, углеводы, а также гуминовые кислоты, витамины ферменты и другие биостимуляторы [5]. Эти элементы питания активизируют физиолого-биохимические процессы в организме животных и способствуют лучшему использованию питательных веществ рациона.

Рядом исследователей [1, 2, 3, 7] было доказано положительное влияние сапропеля на переваримость питательных веществ и минеральный обмен в организме животных. Подкормка животных сапропелевыми гранулами способствует повышению отложения азота в теле, активизирует усвоение кальция и фосфора, повышает переваримость всех питательных веществ рационов. Более высокий уровень использования минеральных элементов влияет на процессы абсорбции и их отложения.

Однако животноводство Республики Беларусь испытывает большую потребность в биологически активных веществах, повышающих иммунитет, улучшающих обменные процессы, способствующих росту продуктивности животных. Одним из местных, естественных источников, содержащих в своем составе биологически активные вещества, являются сапропели, основным биологически активным компонентом которых являются гуминовые кислоты. Они интенсифицируют основные звенья обмена веществ: синтез нуклеиновых кислот и белка, усвоение минеральных веществ, что приводит к усилению роста и развития живого организма [1-5].

В настоящее время внимание животноводов привлекают недорогие высокоэффективные биологически активные вещества естественного происхождения, так как они наиболее доступны, не токсичны и не оказывают нежелательного влияния на организм животного при длительном их применении.

К числу таких препаратов относится получаемый из торфа гумат натрия (гуминат). Установлено, что препарат содержит целый ряд макро- и микроэлементов, а также аминокислот, вступающих в комплексные связи с помощью гумусовых кислот.

В качестве сырья для приготовления добавок-обогащителей используются самые разнообразные кормовые средства, среди которых большое распространение получили ресурсы местной кормовой базы, как более доступные и дешевые. Одним из таких источников служат озерные сапропели - донные отложения пресноводных водоемов, которые хорошо зарекомендовали себя как естественные комплексы органических и минеральных веществ, образованных в результате отмирания растительных и животных организмов.

Потребность животных в макро- и микроэлементах, витаминах и других биологически активных веществах стимулирующего характера в значительной степени может быть удовлетворена за счет широкого использования сапропелей.

Однако, его широкому применению препятствует недостаточная изученность влияния на физиологическое состояние и продуктивность животных, что и послужило поводом для проведения наших исследований.[2].

Разработка рецептуры кормовых добавок на основе сапропелей позволит более рационально использовать зерновые корма и продукты их переработки [3].

Целью работы явилось изучение эффективности скармливания препарата гумат натрия в рационах молодняка крупного рогатого скота в составе комбикормов КР-1.

Материал и методы исследований. Исследования проведены в ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района, Минской области.

Для научно-хозяйственного опыта были подобраны 40 бычков черно-пестрой породы в возрасте 1 месяца, из которых по принципу аналогов было сформировано четыре группы.

Содержание телят было групповым по 5 голов в клетке. Кормление животных было одинаковое согласно схеме рациона, применяемой в хозяйстве. В состав рациона входили: молоко цельное, ЗЦМ, комбикорм КР-1,

сено клеверо-тимофеечное. Опытные группы телят, помимо основного рациона, получали препарат гумат натрия - II - 0,3, III - 0,4, IV - 0,5 мл/кг живой массы.

Основному периоду опыта продолжительностью 54 суток предшествовал 6-ти дневный подготовительный период.

В таблице 1 приведена схема проведения опыта.

Таблица 1 - Схема опыта

Группа	Возраст животных, мес.	Кол-во животных, голов	Продолжительность периода, сутки	
			Подготовительного-6	Основного-54
I- контрольная	1	10	Основной рацион (ОР)	Основной рацион (ОР) – молоко, ЗЦМ, комбикорм КР-1, сено клеверо-тимофеечное
II- опытная	1	10	ОР	ОР +гумат натрия в дозе 0,3 мл/кг живой массы
III- опытная	1	10	ОР	ОР +гумат натрия в дозе 0,4мл/кг живой массы
IV- опытная	1	10	ОР	ОР +гумат натрия в дозе 0,5 мл/кг живой массы

В процессе проведения исследований использованы зоотехнические, биохимические и математические методы анализа и изучены следующие показатели:

1. Расход кормов – путем проведения контрольного кормления один раз в 10 дней, в два смежных дня.
2. Химический состав и поедаемость кормов путем общего зоотехнического анализа. Отбор проб кормов осуществлялся в начале и конце научно-хозяйственного опыта.
3. Морфологические и биохимические показатели крови.
4. Минеральный состав кормов и крови - методом атомно-абсорбционной спектрометрии на анализаторе ААС-3.
5. Живая масса - путем индивидуального взвешивания животных ежемесячно.

На основании показателей продуктивности, стоимости израсходованных кормов, общих затрат на производство продукции произведен расчет экономической эффективности использования кормовой добавки в рационах животных. Полученные экспериментальные данные обработаны методом биометрической статистики по П.Ф. Рокицкому [9] с использованием ПВЭМ.

Результаты исследований. Продуктивность животных зависит от многих факторов, и в том числе от полноценности кормления, в котором комбикорма играют решающую роль. Применение гумата натрия в качестве кормовой добавки оказало положительное влияние на поедаемость рационов, в результате чего фактические потребления животными опытных групп кормов были несколько выше, чем у контрольных сверстников. За период проведения опыта молодняк всех групп потреблял практически одинаковое количество кормов (таблица 2).

Таблица 2 - Рационы кормления телят с использованием гумата натрия в составе комбикорма КР-1

Корма и питательные вещества	Группа			
	I	II	III	IV
1	2	3	4	5
Комбикорм КР-1, кг	1,2	1,2	1,2	1,2
Кукуруза (зерно), кг	0,15	0,15	0,15	0,15
Сено клеверо-тимофеечное, кг	0,45	0,50	0,53	0,55
ЗЦМ, л	4,0	4,0	4,0	4,0
Молоко, л	2,0	2,0	2,0	2,0
В рационе содержится:				
кормовых единиц	2,93	2,95	2,96	2,97
обменной энергии, МДж	25,5	25,7	25,8	25,9
сухого вещества, кг	1,71	1,75	1,77	1,78
сырого протеина, г	400,0	410,0	412,0	415,0
переваримого протеина, г	251,0	256,0	260,1	263,4
сырого жира, г	183,0	185,1	187,4	189,6
сырой клетчатки, г	105,9	110,1	113,3	115,1
сахара, г	330,2	334,7	336,5	338,7
кальция, г	18,9	19,2	19,5	19,9
фосфора, г	14,8	14,9	15,1	15,3
магния, г	2,5	2,6	2,6	2,7
калия, г	21,0	21,1	20,9	21,2
серы, г	5,3	5,7	5,8	6,0
железа, мг	146,4	150,2	151,9	152,6
марганца, мг	90,1	96,3	99,7	100,3
меди, мг	12,9	13,7	14,1	14,6
цинка, мг	78,9	81,0	82,4	83,5
кобальта, мг	3,1	3,3	3,4	3,5
йода, мг	0,9	1,0	1,1	1,0
каротина, мг	81,0	81,1	81,3	81,4
витамина D, тыс. МЕ	3,8	3,8	3,8	3,8
витамина E, мг	39,2	39,2	39,3	39,4

Незначительные различия установлены по потреблению бычками сена с колебаниями 0,45 кг (контроль) до 0,55 кг (опытные). Остальные корма съедались без остатка. В рационах содержалось 2,93-2,97 к.ед., где на 1 кг сухого вещества приходилось 1,67-1,71 корм.ед. Установлено, что в рационах всех групп в расчете на 1 корм.ед. приходилось 132,0-140,0 г переваримого протеина.

По количеству сырого протеина между группами значительных различий не установлено. Данный показатель находился в пределах 400-415 г.

Концентрация обменной энергии в рационах не имела существенных различий между группами и в 1 кг сухого вещества находилась в пределах 14,55-14,69 МДж. На 1 МДж ОЭ приходилось на 9,8-10,2 г переваримого протеина. Для нормализации пищеварения у жвачных необходимо обеспечение животных оптимальным количеством клетчатки (в возрасте до 3 месяцев- 6-12%) [6]. Содержание ее в сухом веществе составило 6,19-6,47 %.

Как отмечают Д.Борзов [7], Н.А. Яцко [8], в первые месяцы жизни особенно важно ввести в рационы растущих животных корма, содержащие легкопереваримые углеводы - простые сахара, при соотношении сахара и протеина в пределах 0,7-1,0, 0:1, в наших исследованиях находилось на уровне 1,3:1. Кальциево-фосфорное отношение равнялось 1,27-1,30:1.

В наших исследованиях после 2-х месяцев использование испытуемой добавки (таблица 3) повысило уровень гемоглобина, в сравнении с контрольными животными, на 3,3% во II группе.

Таблица 3 – Морфо-биохимический статус крови подопытных телят

Показатели	Группа			
	I	II	III	IV
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,29±0,05	6,5±0,14	6,3±0,03	6,3±0,03
Лейкоциты, $10^9/л$	11,1±0,69	15,1±0,73*	11,36±1,32*	14,67±0,76*
Гемоглобин, г/л	96,5±3,8	99,4±3,0	97,0±2,3	99,0±1,5
Общий белок, г/л	81,6±2,16	83,0±1,73	84,9±1,42	85,7±1,38
Глюкоза, ммоль/л	4,08±0,26	4,20±0,22	4,28±0,14	4,35±0,09
Мочевина, ммоль/л	3,77±0,89	3,50±1,16	3,43±0,14	3,40±0,43
Кальций, ммоль/л	3,13±0,05	3,34±0,14	3,37±0,13	3,15±0,08
Фосфор, ммоль/л	2,40±0,04	2,50±0,06	2,52±0,10	2,69±0,05

Установлена тенденция в повышении количества общего белка в сыворотке крови опытных аналогов во II, III, IV группах, разница - 1,7, 4,0 и 5,0%.

Анализ уровня мочевины в крови наглядно демонстрирует интенсивность белкового обмена в организме подопытных животных. Выявлено, что после скармливания кормовой добавки гумата натрия в составе комбикорма в дозе 0,3 мг/кг живой массы (группа II), концентрация мочевины в сыворотке крови телят снизилась на 8,2%, а в количестве 0,4-0,5 мл/кг живой массы - на 9,9-10,8% (группа III и IV).

Метаболическую активность углеводного обмена организма подопытных телят можно проследить по уровню сахара в крови. Скармливание молодняку добавки в течение двух месяцев способствовало повышению уровня глюкозы, в сравнении с контролем, на 2,9, 4,7 и 6,5% во II, III, IV опытных группах.

Изучение показателей энергии роста живой массы животных имеет важное значение в определении эффективности использования кормов и биологически активных веществ.

Наиболее полное представление об эффективности использования питательных веществ корма и трансформации их в продукцию, при включении в рацион молодняка крупного рогатого скота разных кормовых добавок, обеспечивает изучение энергии роста.

Результаты оценки роста и развития молодняка свидетельствуют, что интенсивное выращивание обеспечило высокую скорость роста телят (таблица 4).

Таблица 4 – Живая масса и среднесуточные приросты подопытных телят при скармливании гумата натрия в составе комбикорма КР-1

Показатели	Группа			
	I	II	III	IV
Живая масса, кг:				
в начале опыта	51,7±2,0	50,6±1,9	49,8±1,7	51,0±1,0
в конце опыта	100,6±3,3	101,3±2,4	101,4±2,5	103,8±2,2
Валовой прирост, кг	48,9±1,8	50,7±2,0	51,6±2,2	52,8±2,10
Среднесуточный прирост, г	815,0±35,1	845,0±37,8	860,0±40,2	880±43,4
В % к контролю	100,0	103,7	105,5	108,0
Затраты кормов на 1 кг прироста, корм. ед.	3,6	3,49	3,44	3,40

Изучение динамики роста живой массы и продуктивности показало, что за период научно-хозяйственного опыта животные контрольной группы увеличили свою массу на 48,9 кг, а опытные - на 50,7; 51,6 и 52,8 кг, что на 1,8; 2,7, 3,5 кг больше.

За период опыта у телят II опытной группы среднесуточный прирост живой массы был выше на 30 г, или на 3,7%, III – на 45 г или 5,5%, IV группы – на 65 г, или на 8%, чем у сверстников I группы.

Затраты кормов на 1 кг прироста снизились на 3,6-5,6% при использовании гумата натрия.

Закключение 1. Использование кормовой добавки гумат натрия в составе комбикорма телятам оказывает положительное влияние на поедаемость кормов, физиологическое состояние, продуктивность и экономические показатели выращивания животных.

2. Скармливание кормовой добавки из расчета 0,4-0,5 мл/кг живой массы телятам (живая масса 50-104 кг) активизирует окислительно-восстановительные процессы в организме, что приводит к повышению среднесуточных приростов на 6,0-8,0% и снижению затрат кормов на 4,5-5,6%. Прибыль от снижения себестоимости прироста повышается в опытных группах на 7-9%.

Литература. 1. Добрук, Е.А. Использование биопрепаратов из сапропеля в кормлении телят/Е.А. Добрук, В.К. Пестис, Р.Р. Сарнацкая, А.М. Тарас, Л.М. Фролова//Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. Тр. Т.47, ч. 2/Научно-практический центр Нац. акад. Наук Беларуси по животноводству. – Жодино, 2012.- С. 72-80. 2. Маслов, М.Г. Влияние гумата натрия (гумината) на использование питательных веществ, энергии рационов и мясную продуктивность бычков симментальской породы. Автореф. дисс...канд. с.-х. наук. – Оренбург, 1998. – 17 с. 3. Гутиков, К.Д. Использование сапропеля в качестве компонента кормовых добавок и биостимулятора «Гитин» для растущего и откармливаемого молодняка свиней. Автореф. дисс... канд. с.-х. наук. – Жодино, 2008. – 18 с. 4. Сагайдакова, И.В. Использование каталита и оксигумата натрия при выращивании и откорме бычков. Автореф. дисс... канд. с.-х. наук. – Жодино, 1994. – 25 с. 5. Славецкий, В. Б. Эффективность использования минерально-витаминной смеси из местных источников в рационах молодняка крупного рогатого скота / В. Б. Славецкий// Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. тр./Бел. науч.-исслед.ин-т животноводства Нац. акад. Наук Республики Беларусь. – Минск, 2002. –Т. 37. – С. 227-234. 6. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных: справ.пособие А.П.Калашников и [др.] – Москва, 1985. -352 с. 7. Борзов, Д. Эффективной углеводной и минеральной подкормки при выращивании и откорме бычков на площадке открытого типа в условиях горной зоны Таджикистана: автореф. дис... канд. с.-х. наук/Борзов Д. – Новосибирск, 1992. – 22 с. 8. Яцко, Н. А. Кормление сельскохозяйственных животных: учеб. пособие для техникумов/Н.А. Яцко. – Мн.: Ураджай, 1986. – 216 с. 9. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика / П. Ф. Рокицкий. – Изд. 3-е, испр.- Минск: Вышэйшая школа, 1973. – 320 с.

Статья передана в печать 23.04.2015 г.

УДК: 664.324:[612.392.45:66.094.382]

АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ В ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ МАРГАНЦА, ЦИНКА, КОБАЛЬТА И МЕДИ

Ревякин И.М., Дубина И.Н.

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

В статье проиллюстрированы установленные значения содержания в цельной крови клеточной американской норки марганца, цинка, кобальта и меди. Проанализированы особенности распределения среднего взвешенного и средних значений выборок, входящих в его состав, что позволило прийти к заключению о значительных колебаниях исследованных показателей. На основании представленных данных сделаны некоторые предварительные заключения о возможности их использования в диагностических целях.

In article setpoint values of the content in whole blood of a cell-like American mink of manganese, zincum, a cobalt and copper are illustrated. Proanalizirona of feature of distribution of a weighted average and mean values of the selections which are its part that allowed to come to conclusion about the considerable fluctuations of the studied indexes. On the basis of the presented data some preliminary conclusions about possibility of their use in the diagnostic purposes are made.

Ключевые слова: микроэлементы, американская норка, цинк, медь, марганец, кобальт, кровь.

Keywords: microcells, american mink, zincum, copper, manganese, cobalt, blood.

Введение. В условиях промышленного ведения звероводства, до недавнего времени полагали, что при соблюдении рекомендаций по технологии кормления, норки не должны испытывать недостатка в макро- и микроэлементах. Поэтому в рационе, а так же в показателях крови и органов, контролировали только те минеральные вещества, которые зависели от специфики питания плотоядных пушных зверей (кальций, фосфор, поваренная соль, железо) [1,3,4,6,]. Однако, в последнее время взгляды на роль минеральных веществ в физиологических процессах зверей стали пересматриваться, что вызвано несколькими причинами. С одной стороны: на фоне укрупнения животных, существенно изменился тип кормления, в котором стали широко использоваться нетрадиционные корма с неизученным минеральным составом [7]. С другой же – современные достижения физиологии и биохимии выявили целый ряд взаимодействий минеральных веществ между собой, а так же новые аспекты их участия в процессах обмена витаминов и других биологически активных веществ [5]. В связи с этим, содержание микроэлементов в крови и тканях зверей начало приобретать и некоторое диагностическое значение.

Между тем, в связи с отсутствием интереса к проблеме в предыдущие годы, оказалось, что в настоящее время в доступной литературе совершенно не отражены сведения относительно значений содержания ряда микроэлементов в организме животного. В частности, нам не удалось найти ни одного показателя нормы, касающегося содержания в цельной крови норки таких жизненно важных элементов, как марганец, цинк, кобальт и медь. В связи с этим, целью наших исследований явилось установление ревалентных значений этих минералов в крови и рассмотрение возможностей диагностического применения этих значений.

Материал и методы исследований. Исследования были проведены на 111 клеточных норках, в различных звероводческих хозяйствах Республики Беларусь в 2013-15 гг. Основные данные, по составу выборок и времени проведения исследований представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Некоторые характеристики выборок американской норки, использованных в исследованиях

Хозяйство	Период	n	Тип	Пол	Возраст
СПК «Остромечеве»	март 2013	17	разные цветные	большинство самцы	11-12 мес
УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза»	ноябрь 2013	8	стк	большинство самцы	7-8 мес
УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза»	декабрь 2014	20	сканблэк	большинство самцы	7-8 мес
УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза»	март 2015	22	сканблэк	самцы	11-12 мес
УП «Пинское зверохозяйство Белкоопсоюза»	март 2014	29	разные цветные	самцы	11-12 мес
УП «Пинское зверохозяйство Белкоопсоюза»	март 2015	5	стк	самцы	11-12 мес
Бобруйское отделение УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза»	март 2015	10	сапфир	самцы	11-12 мес

Отбор проб крови у всех животных производился с хвоста. Для этого зверя фиксировали, волосы на кончике хвоста выстригали, кожу дезинфицировали септодезом и отсекали около 3 мм органа. Кровь собирали в эпиндорфовские пробирки по 1,5 мл, после чего накладывали лигатуру для остановки кровотечения. Рану обрабатывали стрептоцидом. В качестве стабилизатора применяли гепарин (2,0 – 2,5 ЕД/мл) или Трилон Б.

Исследования крови выполняли в лаборатории клинической биохимии и гематологии научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО ВГАВМ, аккредитованном в соответствии с СТБ ИСО/МЭК 17025, регистрационный номер: ВУ/122 02.1.0.0870.

Определяли уровень микроэлементов: марганец, кобальт, медь, цинк. Исследование выполнялось в цельной крови атомно-адсорбционным методом, без предварительной депротеинизации. Анализы осуществлялись с использованием атомно-адсорбционного спектрометра с электротермической атомизацией «МГА-915».

Все использованное оборудование является проверенным в соответствии с требованиями СТБ/ISO 17025 в государственных органах, уполномоченных на проведение процедуры проверки.

Полученные результаты были обработаны статистически с вычислением выборочного среднего значения, среднего взвешенного значения (для суммарной выборки), выборочного стандартного отклонения (s), коэффициента вариации (C_v), а также медианы.

Результаты исследований. В результате проведенных исследований были получены показатели содержания в цельной крови животных марганца, цинка, кобальта и меди, данные по которым отражены в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание марганца, цинка, кобальта и меди в цельной крови американской норки, мкмоль/л

Элемент	Статистический показатель	СПК «Остромечеве» (март 2013)	УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза» (ноябрь, 2013)	УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза» (ноябрь, 2014)	УП «Пинское зверохозяйство Белкоопсоюза» (март 2014)	УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза» (март, 2015)	УП «Пинское зверохозяйство Белкоопсоюза» (март 2015)	Бобруйское отделение УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза» (март, 2015)	По всем хозяйствам
Mn	M±m	1,18±0,034*	2,67±0,062	3,60±0,229	3,00±0,110	2,49±0,219	6,76±0,248*	6,53±0,180*	3,19±0,161
	s/C _v	0,14/11,74	0,18/6,60	1,02/28,41	0,59/19,85	1,03/41,25	0,55/8,21	0,57/8,73	1,70/53,26
	Мед.	1,14	2,62	3,44	2,94	2,30	6,65	6,64	2,83
Co	M±m	0,48±0,017	0,49±0,012	0,45±0,022	0,46±0,022	0,48±0,037	0,21±0,030	0,70±0,125	0,48±0,017
	s/C _v	0,07/14,70	0,03/7,04	0,1/21,80	0,12/25,72	0,17/36,38	0,07/30,94	0,40/56,72	0,18/37,84
	Мед.	0,47	0,49	0,45	0,44	0,49	0,20	0,61	0,45
Cu	M±m	12,36±0,289	11,66±0,311	9,17±0,608	12,86±0,243	9,59±0,422	11,46±1,129	18,22±1,185	11,80±0,307
	s/C _v	1,19/9,68	0,88/7,54	2,72/29,67	1,31/10,17	1,98/20,66	2,52/22,04	3,37/20,57	3,23/27,36
	Мед.	12,41	11,52	9,56	13,18	9,21	10,75	17,40	11,56
Zn	M±m	44,57±1,283	50,55±1,907	98,95±5,087*	45,85±1,589	64,69±5,294	63,05±2,301	59,36±2,645	61,28±2,351
	s/C _v	5,28/11,86	5,40/10,67	22,74/22,98	8,56/18,69	24,83/38,39	5,14/8,16	8,36/14,09	24,77/40,43
	Мед.	45,47	50,38	93,50	45,93	52,30	64,11	60,36	52,07

Примечание: *разница достоверна при p≤0,05

Как следует из таблицы, из исследованных микроэлементов в крови американской норки больше всего содержится цинка. Затем, в порядке убывания следуют медь, марганец и кобальт. При этом, в суммарной выборке элементом, наиболее склонным к изменчивости концентрации является марганец. После него, с

разницей 12,83% располагается цинк, а затем – кобальт. Элементом с наименее вариабельным содержанием в крови является медь.

Сильная изменчивость содержания в крови марганца, с учетом разницы между средним содержанием и медианой в 0,36 мкмоль/л делает распределение этого элемента в суммарной выборке стремящимся к ненормальному. При этом, его содержание не зависит от сезона. Так, минимальное содержание элемента (1,18 мкмоль) зарегистрировано в марте 2013 в СПК «Остромечево», а максимальное, превышающее минимальное значение в 5,73 раза, – в УП «Пинское зверохозяйство Белкоопсоюза», опять же в марте (2015г). В каждой отдельно взятой выборке значение среднего показателя не отклоняется от медианы более чем на 0,19 мкмоль/л, что дает основания принять имеющиеся итоговые показатели за нормальные. На наш взгляд, нормальность распределения элемента в выборке говорит об отсутствии явного патологического процесса, влияющего на содержание в крови данного минерального вещества. Выраженные же различия в содержании элемента в каждом хозяйстве очевидно можно объяснить влиянием неких непатогенных факторов. Например, можно предположить, что животные получали добавки железа или кобальта, которые, как известно, ингибируют всасывание марганца.

В отличие от марганца, закономерности распределения цинка в рассматриваемых случаях несколько иные. В суммарной выборке его взвешенное среднее содержание в крови уступает медиане 9,21 мкмоль/л, что является признаком ненормального распределения. При рассмотрении каждой выборки в отдельности, становится очевидным, что как значительный размах варьирования данного показателя, так и ненормальность его распределения в определенной степени продиктованы максимальным содержанием цинка в крови норок в УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза» (ноябрь, 2014). В данном хозяйстве значение этого элемента достигает 98,95 мкмоль/л, при разнице с медианой 5,45 мкмоль/л. В весенний период содержание цинка в крови норок в данном хозяйстве снижается на 34,26 мкмоль/л, но одновременно, до 12,39 мкмоль/л возрастает разница с медианой. Отчасти, это можно объяснить самой большой изменчивостью этого микроэлемента, которая уступает только процентным колебаниям марганца в этот же период года и в этом же хозяйстве.

Ситуация, при которой в каждом конкретном случае на фоне возрастания содержания элемента в крови возрастает степень его варьирования и «ненормальность» распределения признака в выборке, на наш взгляд, может возникать вследствие некоего, общего для стада, деструктивного процесса. Этиологические составляющие процесса, по-видимому, могут носить различный характер: от кормовой интоксикации до инфекционного начала. Обязательным условием при этом является вовлечение в процесс обмена рассматриваемого микроэлемента. В случае с цинком, применительно к стаду клеточных норок, гипотетически может иметь место нарушение кислотности крови [2]. Индивидуальные особенности организма зверя определяют различную степень проявления патологических процессов, что и выражается в сильном варьировании содержания элемента в крови и ненормальности распределения.

Среднее взвешенное содержание кобальта в цельной крови по масштабам варьирования уступает цинку 2,59%, но в отличие от последнего, распределение в итоговой выборке можно принять за нормальное. В большинстве хозяйств средние показатели присутствия этого элемента лежат в пределах 0,45 – 0,49 мкмоль/л. Из них в двух случаях – распределение является нормальным, а в трех – его можно принять за нормальное. Вместе с тем, в УП «Пинское зверохозяйство Белкоопсоюза» (март 2015) содержание кобальта в крови, по сравнению с большинством значений, было снижено в 2 раза. В это же время в Бобруйском отделении УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза» в марте 2015 года уровень металла, по сравнению с остальными выборками, был несколько повышен. Здесь также отмечается сильное его варьирование, что отклоняет распределение от нормального.

С позиций клеточного пушного звероводства, в виду недостатка информации, объяснить недостаток или избыток кобальта в крови – сложно. Можно принять в расчет связь этого микроэлемента с превращениями, лимитируемой для норок аминокислоты метионина, а также его входжение в витамин В12.

Уровень последнего, из рассматриваемых микроэлементов – меди, в наших исследованиях оказался наиболее стабильным. Его выборочные значения, отклоняются от значения взвешенного среднего по сравнению с предыдущими элементами не так явно. Все же среднее минимальное значение, отмеченное в УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза» в ноябре 2013 меньше, чем максимальное значение (Бобруйское отделение УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза» (март, 2015)), практически в 2 раза. Показатели же распределения во всех случаях приближаются к нормальным.

Заключение. Таким образом, проведенный нами сравнительный анализ, относительно содержания в цельной крови клеточных американских норок, марганца, цинка, кобальта и меди, в первую очередь, показал их ревалентные значения для животных данного биологического вида. Особенности распределения среднего взвешенного и средних значений выборок, входящих в его состав, позволяют придти к заключению о значительных колебаниях показателей. Характер таких колебаний, по всей видимости, обусловлен действием целого ряда факторов различного генеза. Так, пониженные значения, при нормальном распределении, очевидно, могут наблюдаться вследствие ингибирования всасывания. Если же в выборке отмечается значительное варьирование показателей и ненормальность распределения, то можно допустить наличие патологического процесса, затрагивающего обмен микроэлемента. В этом плане весьма показательны колебания цинка, содержание которого в большинстве случаев находится на уровне 44 – 65 мкмоль/л. В отдельных же случаях его присутствие может достигать 98,95 мкмоль/л, при коэффициенте вариации более 22%, с последующим увеличением варьирования.

Следовательно, значения содержания в цельной крови марганца, цинка, кобальта и меди, на наш взгляд, могут быть использованы в диагностических целях. Однако для достоверности этого необходимо проведение ряда расширенных исследований, учитывающих возраст, цветовой тип, пол и сопряженные показатели крови.

Литература. 1. Балакирев, Н. А. Основы норководства: монография / Н. А. Балакирев. – Москва : Высш. шк., 2001. – 287 с. 2. Беренштейн, Ф.Я. Микроэлементы и их биологическое значение для животноводства / Ф.Я. Беренштейн. – Минск : Гос. издательство БССР, 1958. – 233 с. 3. Берестов, В. А. Клиническая биохимия пушных зверей : справочное пособие / В. А. Берестов. – Петрозаводск, Карелия, 2005. – 159 с. 4. Звероводство : учебник / Е. Д. Ильина [и др.]. – Санкт-Петербурге : Лань, 2004. – 304 с. 5. Минеральные элементы / А. Л. Цытович [и др.]. – Челябинск : ЧелГМА, 2012. – 137с. 6. Перельдик, Н. Ш. Кормление пушных зверей / Н. Ш. Перельдик, Л. В. Милованов, А. Т. Ерин. – Москва : Агропромиздат, 1987. – 350 с. 7. Потребность норки и песцов в макро- и микроэлементах / К. Харламов [и др.] // Комбикорма. – 2013. – №8. – С. 61 – 63. 8. Слугин, В. С. Болезни плотоядных пушных зверей и их этиологическая связь с патологией других животных и человека / В. С. Слугин. – Киров : КОГУП «Кировская областная типография», 2004. – 592 с.

Статья передана в печать 28.04.2015 г.

УДК 636.934.57 : 611

ОСНОВНЫЕ АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КЛЕТОЧНОЙ АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ

Ревякин И.М., Пугач Е.А.

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

В статье приведены некоторые анатомические особенности органов грудной и брюшной полостей у американской норки. Основное внимание акцентировано на их топографии и форме, в связи с особенностями сформировавшегося в процессе эволюции удлинённого тела норки.

In article some anatomic features of bodies of chest and belly cavities at the American mink are given. The main attention is focused on their topography and a form in connection with features created, in the course of evolution, an oblong body of a mink.

Ключевые слова: норка, органы грудной полости, органы брюшной полости, топография.

Keywords: mink, bodies of a chest cavity, abdominal organs, topography.

Введение. Начиная с 30-х годов прошлого века, американская норка является типичным сельскохозяйственным животным. В настоящее время в Российский государственный реестр включены 23 породы и типы норок. Несмотря на это, данная категория животных, в отличие от других домашних животных, не утратила многие признаки, присущие диким предкам: сезонность размножения, линьку волосяного покрова, динамику обмена веществ [2]. Резко отличаются они и по своим анатомическим особенностям, которые во многом обусловлены как происхождением, так и образом жизни этого биологического вида. Являясь представителем отряда хищных и семейства куньих, норка входит в инфраотряд Arctoidea, который объединяет примитивных членов общей «собачьей» группы [7]. Однако филогенетическое родство с псовыми, вопреки ожиданиям, не определяет их анатомического сходства, так как большинство видов куньих, в отличие от псовых, представлены коротконогими, стопоходящими формами с удлинённым телом. Среди них норка, в некоторой степени, обособляется от представителей своего семейства, что связано с ее амфибиотическим образом жизни. В природе, заселяя берега рек, она отлично плавает и ныряет. Связанные с этим способы передвижения (по суше прыжками, а в воде при помощи лап или изгибов тела) привели к особым эволюционным адаптациям ее скелетных и мышечных элементов, связанных с локомоцией [6]. Необходимость же дыхания в надводном положении и его задержка при нырянии вызвали преобразования органов респираторной моторики [4,5]. При филогенетическом развитии этих и других особенностей опорно-двигательного аппарата, непременно должны были быть затронуты и внутренние органы. В большей степени это касается систем, непосредственно соприкасающихся с внешней средой (дыхательной и пищеварительной), так как помимо формы тела, они были вынуждены приспосабливаться и к функционированию в двух средах: наземной и водной.

Разведение американской норки в условиях звероводческих хозяйств сделало ее удобным объектом для морфологических исследований. С одной стороны, это обеспечивало исследователей дешевым и доступным биологическим материалом. С другой же, такие исследования имели определенную новизну и, до некоторой степени, могли найти практический выход. В конечном итоге, на сегодняшний день, большинство внутренних органов клеточной американской норки являются относительно хорошо описанными [1,3]. Вместе с тем, за рамками исследований остался целый ряд нерешенных морфологических проблем. В частности, практически не рассматривались анатомо-гистологические особенности органов в сезонном и породном аспектах, а попытки провести анализ доместикационных адаптаций свелись лишь к рассмотрению массовых и размерных индексов [8]. На фоне этого остается незамеченным еще одно «забытое» направление в большей степени несущее прикладной характер. При имеющихся исследованиях на системном уровне почти отсутствуют работы, дающие представления об анатомии норки на организменном уровне. Между тем, информация подобного рода была бы полезной, прежде всего, ветеринарным специалистам звероводческих хозяйств, которые должны владеть необходимыми знаниями для проведения патологоанатомического вскрытия. В этом случае, знание особенностей анатомического строения и топографии органов могут помочь быстро и эффективно определить область локализации патологического процесса, а также при необходимости указать точное место взятия биопробы. В связи с этим нами и были проведены исследования, направленные

на выявление основных анатомических особенностей внутренних органов с элементами их топографии у клеточной американской норки.

Материал и методы исследований. Материалом для исследований послужили трупы клеточных американских норок цветовой породы сканблэк и сапфир (n=15), полученные в результате планового осеннего и весеннего забоев в УП «Калинковичское зверохозяйство Белкоопсоюза». Основным методом исследований явился метод анатомического препарирования в сочетании с анатомическим описанием и морфометрией.

Результаты исследований. Из двух основных полостей тела американской норки, грудной и брюшной, наибольшую видовую специфику имеет грудная полость. Одним из элементов, определяющим анатомо-топографические особенности ее органов, является грудная клетка, которая у американской норки имеет ряд особенностей. Внешне, имея вид усеченного конуса, она состоит из 14 (15) сегментов. Из них девять передних являются полными, т.е. каждый из них включает в себя один грудной позвонок, два истинных ребра и один сегмент грудины. Оставшиеся 5(6) – сформированы только грудным позвонком и ложными ребрами, которые, однако, по сравнению с аналогичными образованиями других хищников, имеют свою специфику. Из них 10-12 пары, как правило, благодаря наличию удлиненных реберных хрящей, присоединяются к грудине посредством рыхлой соединительной ткани, и только 13 пара участвует в формировании реберной дуги в классическом виде. 14 (15)-я пара всегда остается висячей и не принимает участие в формировании реберной дуги. Морфофункциональные особенности грудной клетки лаконично дополняют особенности ребер. Эти ее элементы, особенно в костодиафрагмальном отделе, снабжены удлиненными реберными хрящами, придающими грудной клетке в этом месте крайнюю эластичность. Передние же ребра, напротив, являются укороченными, а промежутки между ними – расширенными. Такая ситуация приводит к заметному сужению грудной клетки на уровне первых трех межреберий.

Относительная узость грудной полости в своем краниальном отделе наложила отпечаток на топографию органов. Сердце сдвигается каудально и занимает почти горизонтальное положение. Его основание, лежащее в области шестого ребра, направлено вперед и вправо, а верхушка, доходящая до 8-9 межреберного промежутка – назад и влево.

Легкие американской норки в спавшемся состоянии своими верхушками берут начало во втором межреберном промежутке. Их диафрагмальные доли простираются до купола диафрагмы. Бифуркация трахеи, дающая начало главным бронхам, следующим к правому и левому легким, лежит на уровне 6-7 ребер. Очевидно, под влиянием своеобразно устроенных органов респираторной моторики, правое и левое легкие приобрели ассиметричные черты. Левое из них, состоит из двух вытянутых долей – краниальной и каудальной. Правое же включает в свой состав четыре доли: краниальную, среднюю, каудальную и добавочную. При этом, добавочная доля занимает положение между верхушкой сердца и диафрагмой. Масса долей легких 11 месячных самцов норок цветовой типа сапфир представлена в таблице 1.

Таблица 1 - Морфометрические показатели легких американской норки

Левое легкое			Правое легкое		
доля	масса, г	масса, %	доля	масса, г	масса, %
Краниальная	4,54±0,253*	46,05±1,116	Краниальная	3,74±0,337*	30,92±0,902
Каудальная	5,38±0,405*	53,94±1,116	Средняя	2,31±0,236*	19,09±0,939
–	–	–	Каудальная	4,47±0,369*	36,96±0,791
–	–	–	Добавочная	1,59±0,177*	13,03±0,671
Итого	9,92±0,629*	100	Итого	12,11±1,034*	100

Примечание: *разница достоверна при $p \leq 0,05$

По данным таблицы 1 заметно, что левое легкое по своей массе в 1,22 раза уступает правому легкому. Из двух его долей сильнее развита каудальная, масса которой превышает массу краниальной на 7,89%. Среди долей левого легкого наиболее развитой, как и на правом, является каудальная доля. Затем, в порядке убывания, следуют краниальная, средняя и добавочная доли.

Брюшная полость американской норки лежит под последними грудными и шестью поясничными позвонками. Органы, расположенные в ней, в отличие от органов грудной полости, характеризуются гораздо меньшей специфичностью. Из них наиболее яркие видовые особенности имеют только органы пищеварения.

Однокамерный, кишечного типа желудок лежит в левом подреберье в области 10-13 ребер и в области мечевидного хряща. Его расширенная кардиальная часть занимает дорсальное положение, слегка отклоняясь краниально. Пищевод в нее входит с правой стороны. Выше этого места образуется выпячивание, напоминающее слепой мешок. Большая кривизна обращена каудально, имея при этом тенденцию сдвига в дорсальном направлении. Малая кривизна желудка, в целом повернутая краниально, делает сильный изгиб снизу, отделяя пилорическую часть от остального желудка. Таким образом, последняя оказывается спереди от органа. Она слегка заходит в правое подреберье, где и дает начало двенадцатиперстной кишке. При удаленных левой реберной и брюшной стенках желудок оказывается прикрытым левой латеральной долей печени и селезенкой. Часто указанные органы прикрывают его почти полностью, оставляя свободным лишь небольшой дорсальный участок. В некоторых случаях селезенка имеет уменьшенные размеры или сдвигается каудально, освобождая при этом большую часть левой поверхности органа. Степень визуализации тела желудка при вскрытии стенке также зависит и от степени его наполненности.

Главной отличительной особенностью кишечника американской норки является отсутствия в его составе слепой кишки. Ввиду этого, при вскрытии весьма сложно идентифицировать подвздошную кишку. Относительно хорошо распознаются двенадцатиперстная, тощая и ободочная кишки.

Топография двенадцатиперстной кишки в целом соответствует таковой хищным млекопитающим. Беря начало от пилоруса желудка, она образует небольшую S-образную или сигмовидную извилину, которая при вскрытии просматривается слабо. Далее кишка, как нисходящая часть, следует каудально. Проходит под

правой почкой и под последними поясничными позвонками делает изгиб влево (поперечное колено), после чего возвращается обратно к желудку (восходящую часть), где и переходит в тощую кишку.

Тощая кишка без очерченной границы, взывая свое начало от двенадцатиперстной кишки, образует множество кишечных петель, которые заполняют большую часть брюшной полости. Эти петли хорошо идентифицируются, благодаря развитой брыжейке. Иногда в своем конечном участке тощая кишка формирует четко выраженный плоский диск, обычно лежащий в каудальной части правой подвздошной области. Следующую за тощей подвздошную кишку при вскрытии можно выделить лишь условно. Очевидно, что это участок кишечника равный по диаметру тощей кишке, но не имеющий столь сильно развитой брыжейки. Следующая за ним ободочная кишка, на фоне предыдущего отдела кишечника, заметно выделяется, благодаря, как своему увеличенному диаметру, так и типичному для хищников ходу петель. Она образует восходящее (правое) колено, в области правой почки поворачивает влево (поперечное колено), после чего позади левой почки кишка загибается каудально и, как нисходящее (левое) колено, следует к тазовой полости, перед которой образует небольшую ампулу.

Застенные кишечные железы представлены печенью и поджелудочной железой. Из них печень является самой крупной (67,93±4,127 г). Своей передней (диафрагмальной) поверхностью она входит в нишу, образованную куполом диафрагмы, а задней (висцеральной) соприкасается с рядом органов брюшной полости. Анатомически печень норки подразделяется на шесть долей: правую медиальную, правую латеральную, левую медиальную, левую латеральную, квадратную и хвостатую. Топографически левая часть печени лежит в левом подреберье и не выходит за его пределы. При этом, левая медиальная доля непосредственно соприкасается с диафрагмой, а латеральная, лежащая позади нее, накрывает собой часть желудка (пилорус, малую кривизну и часть тела) и иногда почти контактирует с лежащей на большой кривизне желудка селезенкой. В центре печени находится квадратная доля, на которой справа лежит желчный пузырь. Над квадратной долей располагаются ворота печени, в которые входят воротная вена, печеночная артерия, а выходит желчный проток. Дорсальнее ворот заметна хвостатая доля. От нее по направлению к правой почке отходит хвостатый отросток. Данное образование иногда доходит лишь до краниального конца почки, но чаще лежит непосредственно под почкой, тесно с ней соприкасаясь. Другой отросток хвостатой доли – сосцевидный, помещается в области малой кривизны желудка, между его пилорической частью и телом. Правая часть печени занимает правое подреберье и область мечевидного хряща.

По степени своего развития доли печени несколько разнятся. Их массы у 11-месячных самцов норок сапфир представлены в таблице 2.

Таблица 1 – Масса долей печени американской норки.

Доля	Масса, г	Масса, %	Доля	Масса, г	Масса, %
Правая медиальная	16,95±1,820*	24,84±1,691	Левая медиальная	8,20±0,789*	12,36±1,661
Правая латеральная	12,23±1,370*	17,77±1,570	Левая латеральная	17,05±0,647*	25,36±1,058
Квадратная	6,41±0,862*	9,24±1,022	Хвостатая	7,11±0,549*	10,43±0,484

Примечание: *разница достоверна в левой и правой частях при $p \leq 0,05$

Как следует из таблицы 1, наиболее развитыми анатомическими частями печени являются правая медиальная и левая латеральная доли, массы которых примерно равны. Несколько уступает им правая латеральная доля, а затем следует левая медиальная. Наименее развитыми частями являются хвостатая и квадратная доли печени.

Поджелудочная железа у норки сильно развита и, как и у большинства животных, лежит позади печени в морфологической и функциональной связи с двенадцатиперстной кишкой. Из трех анатомических частей органа (тела, правой и левой долей) тело лежит в области сигмовидной извилины двенадцатиперстной кишки и не имеет четко выраженной формы. Правая доля железы размещается между нисходящей и восходящей частями двенадцатиперстной кишки и сильно варьирует по своей форме. В одних случаях она представляет собой сплошное образование, сверху соприкасающееся с правой почкой. В других это узкая лента, сопровождающая кишку. В некоторых же случаях окончания ленты смыкается с ее началом и, таким образом, доля приобретает кольцевидную форму. Левая доля поджелудочной железы достигает селезенки. Далее, в зависимости от длины, она либо заканчивается под селезенкой, либо выходит из под ее каудального края и следует почти параллельно ей. В этом случае железу можно обнаружить в левом подвздохе норки.

В структуре общего расположения органов брюшной полости помимо органов пищеварения важное место занимают и органы других систем. Среди них наиболее значимыми являются селезенка (орган иммуногенеза и кроветворения) и почки (органы мочеотделения).

Селезенка американской норки имеет форму вытянутого овала, с различными вариантами ширины концев. Иногда они одинаковы по этому параметру, но чаще один из них несколько сужен. В целом, селезенка – это компактный орган, длина и ширина которого сильно варьируют. В выборке взрослых самцов цветового типа сапфир упомянутые параметры составили 7,58±1,520 (lim 6,3 – 9,3 см) и 1,94±0,407 (lim 0,9 – 2,5 см) см, соответственно, при массе 7,89±0,772 г. Широкий разброс метрических вариаций наложил отпечаток на топографию этого органа, занимающего почти горизонтальное положение в области большой кривизны желудка. Ее дорсальный конец отклонен краниально и находится в левом подреберье. Вентральный, в зависимости от длины органа в той или иной степени, заходит в левую подвздошную область.

Почки, в отличие от селезенки, по своей форме, не столь вариабельны. Как и у многих хищников, они гладкие однососочковые, расположены в поясничной области и имеют бобовидную форму. Вместе с тем, в нашем исследовании нам не удалось установить их постоянной топографии относительно поясничных позвонков. Бесспорным фактом является лишь то, что правая почка всегда лежит краниальнее левой. При этом, наиболее часто левая почка расположена под 2-3 или 4-5 поясничным позвонком, а правая – под 1-2 и 2-3 (3-4), соответственно. Наряду с этим, встречаются варианты, когда левая почка сдвигается до 5-6 позвонка. При этом правая остается на уровне 2-3.

Заключение. Таким образом, проведенное нами исследование, показавшее основные анатомо-топографические особенности внутренних органов американской норки, до некоторой степени восполнило недостаток информации, касающейся анатомии этого биологического вида. Его результаты могут быть использованы как практикующими врачами при проведении патологоанатомического вскрытия, так и представителями научной общественности, проводящими изыскания в этой области.

Литература. 1. Каленкевич, А.С. Особенности долевого строения легких американской норки цветкового типа хедлунд / А.С. Каленкевич // *Материалы 97-й международной научно-практ. конф. студентов и магистр. «Студенты – науке и практике АПК».* – Витебск, 23-24 мая, 2012г. – С. 181. 2. Колдаева, Е. Пушные звери клеточного разведения – домашние или дикие? / Е. Колдаева // *Животноводство России.* – 2005. – Март. – С. 36 – 38. 3. Мелькина, А.Н. Возрастные изменения зобной железы у американской норки / А.Н. Мелькина // *Ученые записки Петрозаводского университета. Вопросы звероводства.* – Петрозаводск : 1967. – Т.15, вып.4. – С. 59 – 62. 4. Ревякин, И.М. Некоторые морфофункциональные особенности дыхательной мускулатуры серебристо-черной лисицы и американской норки в связи с их физиологией и образом жизни / И.М. Ревякин // *Ученые записки учрежден. обр-я «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» : научно-практ. журнал / УО АГАВМ; под ред. А.И. Ятусевича.* – Витебск, 2006г. – Т. 42, вып.1, ч.1 – С. 88-91. 5. Ревякин, И.М. О причинах большей подверженности тепловым ударам американской норки, в условиях ферм, по сравнению с лисицам / И.М. Ревякин // *Кролиководство и звероводство.* – 2006. – №5. – С. 97-98. 6. Ревякин, И.М. Некоторые аспекты сопряженности костно-мышечной системы плечевой кости американской норки и домашней кошки / И.М. Ревякин, М.С. Таканова, М.А. Хаткевич // *Сельское хозяйство – проблемы и перспективы / сборник научных трудов УО «Гродненский государственный аграрный университет».* – Гродно, 2010. – Т.2 – С. 377 – 383. 7. Ромер, А. *Анатомия позвоночных* / А. Ромер, Т. Парсонс. – М.: Мир, 1992. – Т. 1. – 358 с. 8. Федорова, О.И. Преобразование и изменчивость экстерьерных и интерьерных признаков у американских норок (*MUSTELA VISON SCHREBER, 1777*) в процессе их промышленной доместикиации / О.И. Федорова // *Информ. вестник ВОГиС, 2009,- Т. 13. – №3. – С. 578-587.*

Статья передана в печать 30.04.2015 г.

УДК 619:617-089.5:616-092:636.7

МОНИТОРИНГ УРОВНЕЙ СТРЕССОВЫХ МАРКЕРОВ ПРИ СПИНАЛЬНО-ЭПИДУРАЛЬНОМ ОБЕЗБОЛИВАНИИ ХИРУРГИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ У СОБАК

Рубленко С.В., Мельников А.В.

Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина

В работе представлены результаты исследований влияния спинально-эпидурального обезболивания на уровень стрессовых маркеров (глюкозы и кортизола) при хирургическом вмешательстве. Представлены данные экспресс-определения уровня глюкозы капиллярной крови. Определены показатели уровня глюкозы (в образцах цельной крови) и кортизола (в сыворотке крови) при комплексном применении нейролептиков и местных анестетиков при регионарном обезболивании у собак. Установлен предел повышения уровня кортизола, при котором организм собаки не претерпевает существенных метаболических изменений болевой реакции при выполнении спинального обезболивания. Приведены данные о влиянии на метаболизм глюкозы и секрецию кортизола местных анестетиков (лидокаин, бупивакаин), нейролептиков ксилазин, медетомидин, общих анестетиков тиопентала натрия и пропофола.

The paper presents the research results of spinal-epidural analgesia on the levels of stress markers (glucose and cortisol) during surgery. The data presented rapid glucose capillary blood. Defined indicators of the level of glucose (in whole blood samples) and cortisol (serum) for complex application neuroleptics and local anesthetics for regional anesthesia in dogs. Set a limit to improve the level of cortisol, the body needs the dog showed no significant metabolic changes in the pain reaction when performing spinal anesthesia. These data on the effect on the metabolism of glucose and cortisol secretion of local anesthetics (lidocaine, bupivacaine), neuroleptics, xylazine, medetomidine, general anesthetics propofol and thiopental sodium.

Ключевые слова: собаки, боль, обезболивание, бупивакаин, лидокаин, кортизол, глюкоза.

Keywords: dog, pain, analgesia, bupivacaine, lidocaine, cortisol, glucose.

Введение. В течение последних десятилетий современная медицина достигла значительного прогресса в изучении боли у животных. Однако интенсивность боли сложно оценить только изменениями общего состояния животного. В связи с этим у животных идентификация боли осуществляется согласно вторичным признакам, к которым относятся: поведение, физиологические и клинические реакции [1].

Ветеринарные врачи с целью выполнения обезболивания отдают предпочтение методикам и препаратам, которые не влияют на сознание, временно угнетают возбуждение нервных окончаний и обратно блокируют проводимость импульсов по нервным волокнам в области введения [2-4]. Поэтому мониторинг анальгезии сейчас является наиболее актуальной задачей. В связи с этим возникает необходимость разработки метода, который бы давал возможность объективно оценивать уровень анальгезии [5].

При хирургическом стрессе и послеоперационной боли наблюдаются нейрогуморальные и метаболические изменения [6]. Боль как стресс-фактор может приводить к повышению в крови уровня глюкозы и кортизола. Колебания уровней этих показателей могут адекватно отражать эффективность схем обезболивания [7].

В последние годы современная ветеринарная медицина широко занимается изучением гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы животных, которая активируется при интенсивной болевой реакции. Основным глюкокортикоидный гормон, способствующий развитию адаптационных реакций в организме животного и быстрому преодолению состояния шока и стресса, является кортизол [1, 8]. Измерение уровня кортизола выполняли у животных с целью определения влияния операционной травмы и боли во время оперативного вмешательства. Определение уровня кортизола остается распространенным методом оценки обезболивания, одновременно с определением концентрации глюкозы [1].

При выборе анестезиологического обеспечения важным является оценка информации о влиянии анестезирующих средств на процессы метаболизма глюкозы и секреции кортизола. Согласно литературным данным известно, что анестезиологические препараты по-разному влияют на катаболические процессы при хирургических вмешательствах [6, 9-15]. Так α 2-адреномиметики ингибируют выделение инсулина, вызывают гипергликемию, путем воздействия на островки Лангерганса [6, 7, 16, 17]. По данным исследователей [6, 9, 18, 19], медетомидин или ксилазин не вызывали никаких существенных изменений концентрации кортизола в плазме крови, то есть α 2-адреномиметики ингибировали секрецию стресс-гормона. Другие авторы [20] установили, что используя ксилазин для седации при выполнении внутривенного стресс-тестирования, в опытной группе по сравнению с контролем наблюдался несколько заниженный уровень кортизола. После введения медетомидина собакам, концентрация глюкозы в плазме имела тенденцию к увеличению, однако не существенно, и оставалась в пределах физиологического диапазона [21]. Исследования *in vitro* свидетельствуют о том, что медетомидин ингибирует секрецию кортизола из коры надпочечников [22].

Авторы утверждают [10], что анальгетических свойств пропофола вполне достаточно только для проведения краткосрочных болевых манипуляций, хотя анестезиологическая сила последнего в 1,5-2 раза превышает тиопентал натрия. Пропофол не влияет на синтез кортизола. Инфузия пропофола снижает интенсивность метаболизма глюкозы, что приводит к возникновению гипергликемии.

В исследованиях без операционного стресса, после введения тиопентала натрия наблюдалось уменьшение секреции кортизола [12]. Барбитураты снижают уровень кортикостероидов, в частности кортизола [23]. Принимая во внимание вышесказанное, остается не совсем понятным, повышается ли вследствие стресса уровень глюкозы выше общепринятой границы, а также является ли нормой повышение уровня глюкозы при стрессовом состоянии [24]. Согласно данным литературы [25] известно, что одним из клинических проявлений метаболического ответа на системное повреждение является развитие гипергликемии, характерной для всех типов критических состояний. Так при операционной травме наблюдается замедление метаболической активности, нарушение баланса между основными анаболическими (инсулин) и катаболическими (кортизол) гормонами, снижение потребления кислорода. Как правило, вследствие этого возникает гипергликемия, повышение гликолиза, замедление окисления глюкозы, замедление глюконеогенеза. Итак присутствие гипергликемии указывает на усиление метаболических реакций, вызванных болью [5].

Известно, что после травмирования повышается секреция кортикостероидов, в том числе и уровень кортизола [25, 26]. Наиболее важным физиологическим эффектом кортизола является повышение уровня глюкозы в крови (за счет стимуляции глюконеогенеза) [23]. Иными словами кортизол обладает антистрессовым действием [24].

Согласно данным исследователей [15], катаболическую реакцию на хирургическое вмешательство можно уменьшить путем применения эпидуральной анестезии, которая блокирует афферентные нервные импульсы в области травмы. Послеоперационное эпидуральное обезболивание не влияет на уровень инсулина и не нарушает метаболизм глюкозы [13, 14]. В вышеуказанных литературных источниках авторами представлены данные о состоянии уровня стрессовых гормонов при комбинированном общем наркозе в сочетании с эпидуральным обезболиванием. Однако отсутствуют данные уровня глюкозы и кортизола при выполнении спинально-эпидуральной анестезии в комбинации с нейролептиками. Исходя из вышеизложенного, основная цель работы - исследовать изменения уровня кортизола и глюкозы в образцах крови собак при оперативных вмешательствах, используя спинально-эпидуральное обезболивание.

Материал и методы исследований. Исследования выполняли на 35 собаках различных пород возрастом 12–36 мес, массой тела от 8 до 23 кг, распределенных поровну на 7 групп. Оперативные вмешательства (овариогистерэктомия, кесарево сечение, спленэктомия, резекцию тонкого отдела кишечника) выполняли при регионарном обезболивании путем спинально-эпидуральной инъекции лидокаина или бупивакаина между L_{IV} – L_V и L_{VII} – S_I позвонками. При этом $\frac{1}{3}$ дозы местного анестетика вводили в субарахноидальное или субдуральное пространство (спинальная инъекция), а $\frac{2}{3}$ в эпидуральное, используя иглы с заточкой типа *Tuohy* и *Quincke* калибра 20G. Для спинальной анестезии использовали гипербарический раствор местных анестетиков, который готовили путем добавления глюкозы в дозе 80 мг/мл рабочего раствора анестетика. Для удобства использовали 40% раствор глюкозы для инъекций). Седацию и регионарное обезболивание выполняли после премедикации атропином сульфата (0,1% раствор в дозе 0,03 мг/кг массы тела, внутримышечно).

Животным контрольной группы для седации применяли ксилазин (2% раствор Хула в дозе 2 мг/кг массы тела, внутримышечно), а для спинально-эпидуральной анестезии использовали лидокаин (2% раствор в дозе 5 мг/кг массы тела).

В первой и второй опытных группах использовали нейролептанестезию ксилазином (в указанной выше дозе) в комбинации с гипнотиком ультракороткого действия пропофолом (1% раствор Пропофол-Ново в дозе 1 мг/кг массы тела болюсно внутривенно, а в дальнейшем – 4 мг/кг/ч, инфузионно, капельно медленно в растворе 0,9% натрия хлорида в соотношении 1:3). В первой группе для спинально-эпидурального обезболивания применяли лидокаин (2% раствор в дозе 5–6 мг/кг массы тела), а во второй - бупивакаин (0,5% раствор Бупивакаина-3Н в дозе 2,3 мг/кг массы тела).

В третьей и четвертой опытных группах в качестве нейролептика применяли медетомидин (0,1% раствор Domitor в дозе 0,04 мг/кг массы тела внутримышечно). Регионарное обезболивание между L_{IV} – L_V и L_{VII} – S_I позвонками в третьей группе выполняли лидокаином, а в четвертой – бупивакаином в указанной выше дозе.

В пятой и шестой опытных группах в качестве гипнотиков использовали барбитурат короткого действия тиопентал натрия (5% раствор Тиопената в дозе 10 мг/кг массы тела, внутривенно). Для регионарного обезболивания в пятой группе применяли лидокаин, а в шестой – бупивакаин, в указанных выше дозах.

Для биохимического исследования крови использовали как цельную не стабилизированную капиллярную кровь, так и сыворотку крови, полученную путем внутривенного отбора одноразовыми вакуумными системами с активатором свертывания и центрифугированием в течение 15 минут со скоростью 3000 об/мин. Отбор крови осуществляли перед премедикацией, после оперативного вмешательства, через 6 часов после окончания операции.

Уровень гликемии определяли глюкозооксидазным методом, основанным на применении биосенсорной технологии, используя фермент глюкозооксидазу. Исследования выполняли с помощью глюкометра фирмы IME-DC (Германия).

Методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови определяли концентрацию кортизола, используя отечественную тест-систему фирмы "Гранум" (г. Харьков). Оптическую плотность измеряли на анализаторе ИФА StatFax 2100 (Awareness Technology, США).

Все расчеты осуществляли с помощью статистической программы StatPol. Разницу между группами считали вероятной при $p < 0,05$.

Результаты исследований. Полученные результаты определения концентрации кортизола и глюкозы представлены в таблице 1.

Уровень глюкозы в крови собак перед премедикацией составил $5,1 \pm 0,14$ ммоль/л. После оперативного вмешательства во всех группах животных отслеживался рост уровня, с колебанием от 1,3 (вторая опытная группа) до 1,8 (первая опытная группа) раза от дооперационного показателя. Наиболее существенным ($p < 0,001$) оно было в третьей, пятой и шестой опытных группах.

Таблица 1 – Динамика уровня глюкозы и кортизола у собак при абдоминальных операциях при использовании спинально-эпидурального обезболивания

Группы	Показатель		Глюкоза (ммоль/л)	Кортизол (нмоль/л)
	Норма (n=10)		$5,2 \pm 0,41$	$252,1 \pm 24,74$
	До анестезии (n=35)		$5,1 \pm 0,14$	$296,0 \pm 16,51$
После анестезии (n=5)				
Контроль	Ксилазин – лидокаин		$7,3 \pm 0,96^*$ $6,5 \pm 0,50^*$	$404,6 \pm 25,73^{**}$ $340,0 \pm 21,62$
Опыт	1	Ксилазин – пропофол – лидокаин	$9,3 \pm 1,93^*$ $8,4 \pm 1,70$	$346,3 \pm 54,31$ $297,8 \pm 46,71$
	2	Ксилазин – пропофол – бупивакаин	$6,5 \pm 0,41^{**}$ $6,1 \pm 0,36^*$	$340,6 \pm 35,03$ $307,1 \pm 24,90$
	3	Медетомидин – лидокаин	$8,0 \pm 0,38^{***}$ $7,0 \pm 0,33^{***}$	$385,3 \pm 75,98$ $345,6 \pm 67,47$
	4	Медетомидин – бупивакаин	$7,1 \pm 0,58^{**}$ $6,4 \pm 0,52^*$	$327,6 \pm 19,95$ $297,3 \pm 17,61$
	5	Тиопентал – лидокаин	$8,2 \pm 0,50^{***}$ $7,4 \pm 0,46^{***}$	$285,7 \pm 37,67$ $362,8 \pm 47,84$
	6	Тиопентал – бупивакаин	$8,1 \pm 0,42^{***}$ $7,4 \pm 0,39^{***}$	$294,3 \pm 55,62$ $346,0 \pm 68,37$

Примечания: 1 – числитель – после операции, знаменатель – через 6 часов после операции.

2 – p: * – $< 0,05$; ** – $< 0,01$; *** – $< 0,001$; остальные $\rightarrow > 0,05$ по сравнению с показателем до анестезии

Повышение уровня глюкозы вероятно связано с фармакологическими свойствами седативных и гипнотических препаратов: ингибировать выделение инсулина либо понижать интенсивность метаболизма глюкозы.

Очередное исследование глюкозы через 6 часов после оперативного вмешательства указывало на рост уровня последней, с колебанием от 1,2 (вторая опытная группа) до 1,6 (первая опытная группа) раза по сравнению с показателем после премедикации. Вероятным ($p < 0,001$) оно было в третьей, пятой и шестой опытных группах.

Тенденцию спада послеоперационного уровня глюкозы по сравнению с уровнем последней через 6 часов после операции можно объяснить влиянием периода полувыведения всех фармакологических препаратов, которые использовались для вышеупомянутого комплексного обезболивания.

Анализируя уровень кортизола в сыворотке крови животных в большинстве групп прослеживается повышение послеоперационного его уровня по сравнению с дооперационным. Данное повышение было достоверным ($p < 0,01$) в контрольной группе и не превышало увеличение показателя в 1,4 раза. Однако в последних пятой и шестой опытных группах тенденция уровня кортизола была направлена в сторону уменьшения. Это свидетельствует о том, что барбитураты понижают уровень кортикостероидов, в частности кортизола, что совпадает с исследованиями [12].

Поскольку тиопентал натрия не обладает анальгетическими свойствами, вероятно его применение при спинально-эпидуральном обезболивании амидными местными анестетиками уменьшает катаболические реакции в ответ на хирургическую травму, о чем свидетельствуют немного заниженные показатели послеоперационного уровня кортизола по сравнению с конценрацией его до анестезии.

Повышение уровня кортизола свидетельствует о недостаточном уровне анальгезии. Ведь при спинальной анестезии, выполняемой инъекцией местных анестетиков между L_{IV}–L_V позвонками, обезболивается только соматическая часть нервной системы. Причем действие местных анестетиков, введенных между вышеуказанных позвонков, не распространяется на висцеральную нервную систему [27, 28]. К тому же гипнотики не обладают специфическими антиноцицептивными свойствами и вызывают неспецифическое действие, выключая сознание, то есть лишь устраняют сознательное ощущение боли [29]. Это объясняет, почему животные в состоянии гипнотического сна боли сознательно не испытывали, в отличие от тех, которые только находились в состоянии поверхностной седации, и чувствовали умеренный дискомфорт [30]. Через 6 часов после операции уровень кортизола остается высоким и сохраняет тенденцию к росту по сравнению с показателем до премедикации, на что указывает ощущение боли животным после периода полувыведения из организма задействованных фармпрепаратов.

Согласно результатам наших исследований, учитывая выше сказанное, на повышение уровня секреции кортизола и глюкозы влияет ответ катаболических реакций, связанных с болью.

Заключение. 1. Применение спинально-эпидуральной анестезии позволяет блокировать афферентные нервные импульсы в области травмы, уменьшает катаболические реакции на хирургическое вмешательство.

2. Медетомидин, ксилазин, пропофол способствуют увеличению уровня глюкозы крови выше нормы в среднем на 52%, что составляет от 6,5±0,41 ммоль/л до 9,3±1,93 ммоль/л. На это следует обратить внимание при выполнении седации животным с риском возникновения гликемического шока.

3. При спинально-эпидуральном обезболивании повышение уровня кортизола в среднем до 400 нмоль/л не свидетельствует об ощущении чувства боли у собак.

Дальнейшие исследования в этом направлении позволят учитывать уровень стресс-гормона при оптимизации схем обезбоживания.

Литература. 1. Landa L. Боль у домашних животных и методы её оценки: [Обзор] / L. Landa // Современная ветеринарная медицина. – 2012. – № 4. – С. 28–32. 2. Рубленко С.В. Застосування місцевих анестетиків у комплексному знеболюванні за абдомінальних оперативних втручань у собак / С.В. Рубленко, А.В. Мельніков, А.В. Березовський // Ветеринарна біотехнологія – Ніжин, 2013.– Вип. 22. – С. 505–511. 3. Рубленко С.В. Комплекс заходів, направлених на запобігання токсичної дії місцевих анестетиків за регіонарного знеболювання у собак / С.В. Рубленко, А.В. Мельніков // Наук. вісник вет. медицини БНАУ. – Біла Церква, 2014. – Вип. 13 (108). – С. 208–304. 4. Недашковский Э.В. Базовый курс анестезиологии / Э.В. Недашковский, В.В. Кузьков. – Архангельск: Северный государственный медицинский университет, 2010. – 238 с. 5. Светлов В.А. Сбалансированная анестезия на основе регионарных блокад: стратегия и тактика / В.А. Светлов, А.Ю. Зайцев, С.П. Козлов // Анестезиология и реаниматология. – 2006. – №4. – С. 4–12. 6. Kanda T. Neurohormonal and metabolic effects of medetomidine compared with xylazine in healthy cats / Terpei Kanda, Yoshiaki Hikasa // Can J Vet Res. – 2008. – №72(3). – P. 278–286. 7. Обезболивание после обработки периодонта у собак: сравнение трёх протоколов анальгезии / P. Rauser, P. Janalik, M. Markova [и др.] // Современная ветеринарная медицина. – 2013. – № 5. – С. 39–43. 8. Рубленко С.В. Анастезіологічне забезпечення оперативних втручань із соматичним типом больової реакції у собак / С.В. Рубленко, В.М. Власенко // Ветеринарна медицина України. – 2010. – №4. – С. 20–22. 9. Ambrisko T.D. Neurohormonal and metabolic effects of medetomidine compared with xylazine in beagle dogs / T.D. Ambrisko, Y. Hikasa // Can J Vet Res. – 2002. – №66(1). – P. 42–49. 10. Перший досвід використання препарату Пропофол-Ново в програмах анестезіологічного забезпечення лапароскопічних холецистектомій та оперативних втручань в отоларингології / М.В. Бондар, С.О. Кондратенко, С.С. Гончарук [та ін.] // Медицина неотложных состояний. – 2013. – №3(50). – С. 1–6. 11. Полатайко О. Ветеринарная анестезия: [практическое пособие] / Ольга Полатайко. – К.: «ВД «Перископ», 2009. – 407 с. 12. Долина О.А. Влияние общей анестезии и ее компонентов на свободнорадикальные процессы / О.А. Долина, Ф.С. Галеев, Р.Р. Фархутдинов // Анестезиология и реаниматология. – 1987. – №5. – С. 71–75. 13. Effect of epidural analgesia on postoperative insulin resistance as evaluated by insulin clamp technique / I. Uchida, T. Asoh, C. Shirasaka [et al] // Br J Surg. – 1988. – №75(6). – P. 557–562. 14. Epidural anesthesia and analgesia decrease the postoperative incidence of insulin resistance in preoperative insulin-resistant subjects only / F. Donatelli, A. Vavassori, S. Bonfanti [et al] // Anesthesia and analgesia. – 2007. – №104(6). – P. 1587–1593. 15. Inhibition of plasma cyclic AMP, glucose and cortisol response to surgery by epidural analgesia / S.N. Madsen, M.R. Brandt, A. Engquist [et al] // Br J Surg. – 1977. – №64(9). – P. 669–671. 16. Кэрролл Г.Л. Анестезиология и анальгезия мелких домашних животных / Геендоллин Л. Кэрролл; [пер. с англ. ООО «ПроТекст»]. – М.: Аквариум-Принт, 2009. – 296 с. 17. Effect of xylazine hydrochloride upon plasma glucose and serum insulin concentrations in adult pointer dogs / G.J. Benson, J.C. Thurmon, C.A. Neff-Davis [et al] // J Am Anim Hosp Assoc. – 1984. – №20. – P. 791–794. 18. Perioperative stress response in the dog: effect of preemptive administration of medetomidine / G.J. Benson, T.L. Grubb, C.A. Neff-Davis [et al] // Vet Surg. – 2000. – №29(1). – P. 85–91. 19. Cardiorespiratory responses and plasma cortisol concentrations in dogs treated with medetomidine before undergoing ovariohysterectomy / J.C.H. Ko, R.E. Mandsager, D.N. Lange [et al] // J Am Vet Med Assoc. – 2000. – №217(4). – P. 509–514. 20. Frank L.A. Comparison of serum cortisol concentration before and after intradermal testing in sedated and nonsedated dogs / L.A. Frank, G.A. Kunkle, K.M. Beale // J Am Vet Med Assoc. – 1992. – №200(4). – P. 507–510. 21. Effects of medetomidine on serum insulin and plasma glucose concentrations in clinically normal dogs / S.A. Burton, K.A. Lemke, S.L. Ihle [et al] // Am J Vet Res. – 1997. – №58(12). – P. 1440–1442. 22. Jager L.P. Effects of atipamezole, detomidine and medetomidine on release of steroid hormones by porcine adrenocortical cells in vitro / L.P. Jager, G.I. De Graat, H.C. Widjaja-Greefkes // Eur J Pharmacol. – 1998. – №346(1). – P. 71–76. 23. Лабораторный справочник СИНЭВО / [Небыльцова О.В., Климова Ж.А., Носенко Г.А., Боровик О.А., Бойко И.В. и др.]. – К.: ООО «Доктор-Медиа», 2013. – 644 с. 24. «Стрессовый сахар» в анестезиологии / В.Л. Коваленко, А.В. Мальцев, Е.В. Салиева [и др.] // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2010. – № 2(д.). – С. 107–108. 25. Гипергликемия при критических состояниях: возможные пути решения проблемы / О.А. Обухова, Ш.Р. Кашия, И.А. Курмуков [и др.] // Медицина неотложных состояний. – 2011. – № 4(35). – С. 49–53. 26. Волчков В.А. Применение эпидуральной анальгезии для купирования выраженных болей в пояснице / А.В. Волчков, М.Д. Дидур, В.И. Страшинов // Анестезиология и реаниматология. – 2003. – №4. – С. 25–28. 27. Фольмерхаус Б. Анатомия собаки и кошки / Б. Фольмерхаус, Й. Фреведин. – М.: «Аквариум», 2003. – С. 438–444. – (Пер. с англ.). 28. Hall L.W. Veterinary Anaesthesia 10 th edition / L.W. Hall, K.W. Clarke, C.M. Trim // Harcourt Publishers Limited. – 2001. – P. 225–245. 29. Системная и регионарная атиноцицептивная защита пациента в хирургии. Проблема выбора / Н.А. Осипова, В.В. Петрова, С.В. Митрофанов [и др.] // Анестезиология и реаниматология. – 2006. – №4. – С. 12–16. 30. Рубленко С.В. Застосування місцевих анестетиків у комплексному знеболюванні за

УДК 619:617-001.5:616-074:615.31:636.7

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА У СОБАК С ПЕРЕЛОМАМИ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ И ЗАМЕЩЕНИЕМ КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ «БИОМИНОМ-ГТ»**Рубленко М.В.,* Семеняк С.А.,* **Поворознюк В.В., ***Ульянчик Н.В.**

* «Белоцерковский национальный аграрный университет», г. Белая Церковь, Украина,

**Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарьова НАМН Украины, г. Киев, Украина,

***Институт проблем материаловедения им. И.Н. Францевича, г. Киев, Украина

В статье отображена динамика содержания остеокальцина (ОС) и β -терминального телопептида коллагена I типа (β -СТх) в сыворотке крови собак с переломами бедренной кости и костей предплечья. Установлено, что при замещении костных дефектов остеокондуктивным материалом «Биомином-ГТ» консолидация перелома происходит в 1,2 раза быстрее. Самая большая концентрация ОС была у собак с переломами бедренной кости. При переломах костей предплечья пик его концентрации наблюдается на 30-е сутки после остеосинтеза. Содержание β -СТх в сыворотке крови собак было самым высоким в контрольной группе и более динамично изменялось при заполнении костного дефекта «Биомином-ГТ». Биохимические маркеры костного метаболизма позволяют проследить динамику заживления переломов костей и на ранних стадиях, до появления рентгенологических изменений, спрогнозировать его течение.

The osteocalcin (OC) and β - terminal telopeptide collagen of I type (β -CTx) dynamics in blood serum of dogs with femur and forearm bones fracture was showed. It is established that replacement of bone defects with "Biomim-GT" acuterate bone healing in 1,2 times. The maximum activity of OC appeared in dogs with femur fracture. The peak of OC concentration observed on 30th day after osteosynthesis fractured radius and ulna bones. The maintenance of β -CTx in blood serum was high in control group and more dynamically changed in case a filling of bone defect by "Biomim-GT". Markers of a bone metabolism allow to investigate dynamics of fracture healing on the early stages before occurrence of X-ray changes and give opportunity to prognosis bone healing in future.

Ключевые слова: собаки, переломы, костные биомаркеры, биомином.**Keywords:** dog, bone fracture, bone markers, biomin.

Введение. У собак среди хирургической патологии преобладает травматизм, который находится на уровне 23–46% [1–3]. Наиболее сложными последствиями травм являются переломы костей, которые составляют 6–15% среди всей хирургической патологии [2, 4]. Среди трубчатых костей чаще травмируются бедренная и кости предплечья, при этом частота осколочных фрактур может достигать 25–60% [5–7]. Именно такие переломы, как правило, сопровождаются дефектами костной ткани по причине удаления мелких осколков при невозможности их репозиции и фиксации или вследствие потери связи с мышечной тканью. Костный дефект в зоне перелома способствует развитию нестабильности, что обуславливает необходимость применения более сложных методов остеосинтеза (пластины с винтами, внешние фиксаторы и др.). Однако это не всегда ведет к успешному лечению, и часто наблюдаются различные осложнения в виде замедленной консолидации, развития ложных суставов, остеомиелита. В связи с этим постоянно ведутся поиски материалов, которыми можно заместить костный дефект и ускорить процесс заживления перелома.

К таким остеокондуктивным материалам на основе фосфатов кальция в виде гидроксилпатита и трикальцийфосфата относятся кергап, остим-100 и др. [8–9], а также биокомпозиты – коллапан, гапкол, в состав которых входит коллаген [10]. Однако наличие чужеродного коллагена в составе таких материалов нередко приводит к развитию иммунозависимых реакций в организме собак, что способствует развитию осложнений.

Материалы на основе фосфатов кальция можно изготовить путем синтеза из солей кальция и фосфатов, что исключает возможность передачи инфекции, они биологически совместимы, имеют различные формы выпуска: порошок, гранулы, блоки. Наличие в гранулах и блоках определенной пористости способствует быстрой интеграции его с костной тканью и формирование костно-керамического композита в зоне перелома, который может выдерживать функциональные нагрузки и, постепенно резорбируясь, замещаться костной тканью [11].

Процесс заживления переломов костей имеет сложную регуляцию и зависит от многих факторов. Поэтому очень важно уметь контролировать его течение и прогнозировать исход. Однако в ветеринарной ортопедии этой проблеме посвящены единичные исследования, а многие вопросы остаются дискуссионными. Одни исследователи предлагают контролировать течение репаративного остеогенеза по интенсивности фосфорно-кальциевого обмена, активности общей щелочной фосфатазы [8, 12]. Другие свидетельствуют о достаточной стабильности концентрации макроэлементов в крови при репаративном остеогенезе, а интенсивность фосфорно-кальциевого обмена предлагают определять в костном регенерате [13]. Однако эти показатели не являются достаточно специфическими маркерами костного метаболизма.

Цель работы – исследовать динамику биомаркеров костного метаболизма при репаративном остеогенезе в случае замещения костных дефектов трубчатых костей у собак гранулами «Биомина-ГТ».

Материалы и методы исследований. Работу выполняли в хирургической клинике Белоцерковского НАУ на собаках с диафизарными осколочными переломами бедренной кости и костей предплечья. Диагноз устанавливали на основании клинических и рентгенологических данных. Животных в возрасте 2,2–5,5 лет разделили на три группы 1-я группа (n=5) – собаки с осколочными переломами бедренной кости, 2-я и 3-я (по 5 гол) – костей предплечья.

Животным всех групп после общего и местного обезболивания проводили латеральный доступ к поврежденной кости. После фиксации отломков гравиметрически измеряли объем костного дефекта (по объему воды, которую вытесняет предварительно внесенный в дефект оттискной материал - альгинат натрия). Экстракостальный остеосинтез проводили пластинами, которые закрепляли шурупами. В 1-й и 2-й группах дефекты костной ткани замещали гранулами остеотропного материала «Биомин-ГТ», производства ЦНТУ «Рапид», (Украина), который состоит из синтетического гидроксилатапата и β -трикальцийфосфата $\leq 50\%$, в 3-й группе костный дефект не заполняли. Рану ушивали послойно. В послеоперационный период всем собакам применяли цефазолин в дозе 25 мг/кг. Течение репаративного остеогенеза контролировали клинически, рентгенологически, натошак на 7-е, 14-е, 30-е и 60-е сутки после остеосинтеза проводили отбор проб крови. В группу клинически здоровых собак (n=8) включали животных того же возраста, которые подлежали диспансеризации. В сыворотке крови определяли содержание остеокальцина (ОК) и β -терминального телопептида коллагена I типа (β -СТх) (тест системой cobas) иммуноферментным методом на хемилюминисцентном анализаторе Elecsys 2010 (Roche Diagnostics, ФРГ).

Результаты исследований. Метаболизм костной ткани связан с двумя противоположными процессами – остеогенезом и резорбцией, которые являются результатом активности костных клеток – остеобластов и остеокластов. Они синтезируют ряд веществ (специфические ферменты, белки и др.), которые частично попадают в кровоток, где могут быть исследованы, что и позволяет объективно оценить активность костных клеток и спрогнозировать течение костной патологии. В ветеринарной ортопедии изучению динамики специфических костных биомаркеров при репаративном остеогенезе посвящены единичные зарубежные работы [14, 15]. При этом некоторые исследователи не подтверждают их диагностическую информативность [16], что может быть связано с разной чувствительностью некоторых костных маркеров при определенных изменениях костного метаболизма, поэтому требуется дальнейшее изучение этого вопроса.

Согласно результатам клинико-рентгенологических исследований при использовании Биомин-ГТ для замещения костных дефектов после экстракостального остеосинтеза осколочных переломов костей предплечья их заживление наступает в 1,2 раза быстрее. Заживление осколочных переломов бедренной кости при использовании Биомин-ГТ происходит на 11-14 суток быстрее, чем заживление аналогичных переломов без замещения костного дефекта [17].

Для оценки течения репаративного остеогенеза важно исследовать специфические биомаркеры костной ткани, которые изменяются только под влиянием костного метаболизма. Один из таких – остеокальцин, самый распространенный неколлагеновый, кальцийсвязывающий белок органического матрикса кости, который синтезируется остеобластами.

Для комплексной оценки течения репаративного остеогенеза важно исследовать не только остеогенез, но и процессы резорбции костной ткани, маркером чего являются продукты деградации коллагена I типа – С-телопептиды (СТХ). Коллаген I типа составляет более 90% органического матрикса кости, синтезируется непосредственно остеобластами, а при резорбции костной ткани небольшие пептидные фрагменты попадают в кровь, где могут быть исследованы.

У клинически здоровых собак содержание в сыворотке крови ОС и β -СТх установлено на уровне $25,7 \pm 1,65$ нг/мл и $0,34 \pm 0,03$ нг/мл, соответственно. При исследовании концентрации ОС в сыворотке крови собак на различных стадиях репаративного остеогенеза было установлено, что на протяжении всего периода заживления осколочных переломов бедренной кости в 1-й группе её уровень был в 1,6-1,8 раза ($p < 0,05$) выше, чем у клинически здоровых животных. При этом на 7-е и 14-е сутки его концентрация превышала в 1,2 и 1,7 раза ($p < 0,05$), соответственно, показатели контрольной группы (таблица 1).

Таблица 1 - Содержание биомаркеров костного метаболизма в сыворотке крови собак с переломами трубчатых костей

Показатели	Клинически здоровые (n=8)	7-е сутки	14-е сутки	30-е сутки	60-е сутки
ОС (нг/мл)	25,7±1,65	42,4±0,56 ^{***+}	45,3±2,74 ^{***++}	44,6±5,50 ⁺	44,0±6,78 ⁺
		27,0±1,14 ⁺⁺	30,9±2,71	34,4±3,22 ⁺	26,6±3,37
		35,7±2,18 ^{**}	27,0±3,64	38,3±4,85 ⁺	31,9±6,87 ⁺
β -СТх (нг/мл)	0,34±0,03	0,60±0,02 ⁺	0,76±0,10	0,62±0,06 ⁺	0,44±0,05 ⁺
		0,38±0,07 ⁺	0,46±0,06 ⁺⁺	0,61±0,09 ⁺	0,67±0,07 ⁺
		0,58±0,03 ^{**}	0,85±0,05 ^{**}	0,65±0,03 ^{**}	0,72±0,09 ^{**}

Примечания: 1) I – первая опытная группа (n=5); II – вторая опытная группа (n=5); III – контрольная группа (n=5);

2) значение p: * – $< 0,05$; ** – $< 0,01$; *** – $< 0,001$, остальные – $> 0,05$ по сравнению с клинически здоровыми животными;

3) значение p: + – $< 0,05$; ++ – $< 0,01$; остальные – $> 0,05$, между опытной и контрольной группами

Концентрация β -СТх также была в 1,8-2,2 раза ($p < 0,05$) выше, чем у клинически здоровых собак в течении 30 дней после остеосинтеза и только на 60 сутки снизилась до $44,0 \pm 0,05$ нг/мл, что не имело достоверной разницы с показателями клинически здоровых собак. Следует обратить внимание, что у животных 1-й группы показатели костного метаболизма были существенно выше, что, видимо, связано с большей площадью зоны перелома бедренной кости по сравнению с фрактурами костей предплечья и, как следствие,

большей активностью костных клеток: остеобластов и остеокластов. В то же время следует отметить, что пиковый уровень β -СТх имел место на 14-е сутки репаративного остеогенеза, что свидетельствует об интенсивности остеорезорбции. Стабильно же высокий уровень остеокальцина во все периоды исследования указывает на интенсивный остеогенез.

Уровень ОК во второй опытной группе постепенно повышался до 30-х суток, когда его концентрация в 1,3 раза превысила ($p < 0,05$) показатели клинически здоровых собак. При этом на 7-е сутки его уровень был в 1,3 раза ($p < 0,01$) ниже, чем в контрольной группе, что, вероятно, связано со способностью «Биомина-ГТ» локализовать репаративный процесс в зоне перелома и, как следствие, меньшим развитием периостальной реакции, которая в большей степени наблюдалась в контрольной группе и сопровождалась увеличенным содержанием ОС на 7-е и 30-е сутки. Концентрация β -СТх в контрольной группе была повышенной на протяжении всего периода исследований в 1,7-2,5 ($p < 0,05$) раза, что вероятно связано с чрезмерной активностью остеокластов в начальный период – резорбция отломков в зоне костного дефекта, а в более позднем – периостального регенерата. Во второй опытной группе динамика β -СТх характеризовалась постепенным повышением концентрации с пиком на 60-е сутки, при этом его содержание в сыворотке крови на 7-е и 14-е сутки было в 1,5-1,8 раза меньше ($p < 0,05$) чем в контрольной группе, что свидетельствует о более динамичном течении репаративных процессов в опытных группах.

Заключение. Материал «Биоин-ГТ» в зоне перелома выполняет функцию остеокондуктивной матрицы для формирования костной мозоли, а пористость гранул способствует пространственной ориентации синтезированного остеобластами коллагена, что ускоряет консолидацию переломов. Содержание костных маркеров в сыворотке крови собак с переломами костей позволяет отслеживать активность костных клеток, что дает возможность контролировать течение репаративного остеогенеза задолго до появления рентгенологических изменений.

Концентрация ОС и β -СТх в сыворотке крови собак с переломами трубчатых костей отображает процессы остеогенеза и резорбции. Самым интенсивным остеогенез был у собак 1-й группы, при этом значимое повышение ОС во всех группах наблюдалось на 30 сутки, что отвечает пику активности остеобластов. Концентрация β -СТх в сыворотке крови собак отображает процессы костной резорбции, которые были самими высокими в контрольной группе и более динамично проходили при заполнении костного дефекта «Биомином-ГТ».

Литература 1. Пустовіт Р.В. Гемостаз та його корекція при переломах трубчастих кісток у собак : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.05 „Ветеринарна хірургія” / Р.В. Пустовіт. – Біла Церква, 2008. – 22 с. 2. Рубленко С.В. Моніторинг ветеринарної допомоги і структура хірургічної патології серед дрібних домашніх тварин в умовах міської клініки / С.В. Рубленко, О.В. Єрошенко // Вісник Сумського НАУ. – Суми, 2012. – Вип. 1 (30). – С. 150-154. 3. Семеняк С.А. Структура переломів кісток у собак в умовах мегаполісу / С.А. Семеняк, С.В. Рубленко, Ю.М. Данилейко // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту. – Біла Церква. – 2014. – Вип. 13 (108). – С. 218–223. 4. Сахно Н. В. Оптимізація репаративного остеогенеза при костних травмах у малих домашніх тварин : автореф. дис. на соиск. учен. степені д-ра вет. наук : спец. 06. 02. 04 – ветеринарна хірургія / Н. В. Сахно; ФГБОУ ВПО «Орловський державний аграрний університет». – Орел, – 2012 – 22 с. 5. Телятніков А.В. Поширення переломів кісток у собак / А.В. Телятніков // Наук. вісник вет. мед.: 36. наук. праць. – Біла Церква, 2013. – Вип. 11 (101). – С. 149 – 153. 6. Haaland P.J. Appendicular fracture repair in dogs using the locking compression plate system: 47 cases / P.J. Haaland L. Sjöström; M. Devor; et al // Vet. Comp. Orthop Traumatol. – 2009. Vol. 4. – P. 309–315. 7. Анников В.В. Характер и частота травматических повреждений трубчатых костей у мелких непродутивных животных в городе Саратове / В.В. Анников // XIV Международный московский конгресс по болезням мелких домашних животных : тезисы докл. – М., 2006. – С. 82–83. 8. Смурна О.В. Застосування екстрацелюлярного остеосинтезу та гідроксилатапату "кергап" при переломах клубової кістки у собак: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.05 „Ветеринарна хірургія” / О.В. Смурна – Біла Церква, 2009. – 20 с. 9. Оценка биосовместимости имплантационных кальций-фосфатных материалов в зависимости от их минерального состава / И.А. Талашова, Т.А. Силантьева, Н.А. Кононович, С.Н. Лунева // Бюллетень сибирской медицины. – 2012, – №3. – С. 62–68. 10. Козлов Н.А. Влияние коллапана на остеорепарацию при экстремедулярном остеосинтезе длинных трубчатых костей у собак: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. вет. наук: спец. 16.00.05 „ ветеринарная хирургия” / Н.А. Козлов – Москва, 2002. – 20 с. 11. Ульянов Н.В. Иващенко Е.А. Узарова И.В. и др. Возможность использования кальцийфосфатной керамики в качестве носителя лекарственных средств // Укр. морфолог. альманах. – 2010. – №2. – С. 44–46. 12. Дорошук В.О. Стимуляція репаративної регенерації кісткової тканини при переломах у собак: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. вет. наук: спец. 16.00.05 „Ветеринарна хірургія” / В.О. Дорошук – Біла Церква, 2004. – 19 с. 13. Белов А. Д. Видовые особенности патогенеза костной травмы, рациональные способы лечения и стимуляции остеогенеза у животных (Радиобиологические, рентгено-морфологические, био- и гистохимические исследования) : автореф. дис. на соиск. науч. степени д-ра вет. наук : спец. 16.00.05 „Ветеринарная хирургия” / А. Д. Белов – М., 1973. – 38 с. 14. Sousa C. Serum total and bone alkaline phosphatase and tartrate-resistant acid phosphatase activities for the assessment of bone fracture healing in dogs / C. Sousa , H. Abreu, C. Viegas // Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. – 2011. Vol 63. – P.1007-1011. 15. Paskalev M. Сравнительное исследование костных маркеров крови при нормально заживающих и инфицированных моделях перелома кости у собак / M. Paskalev // Современная ветеринарная медицина. – 2012. – №2. – С. 13–18. 16. Theyse, L. The efficacy of the bone markers osteocalcin and the carboxyterminal cross-linked telopeptide of type-I collagen in evaluating osteogenesis in a canine crural lengthening model / Theyse, L.; Mol, J.A.; Voorhout, G. et al // Vet. J. – 2005. Vol.171. – P.525-531. 17. Semenyak S. Prospects of use of biocomposite materials for comminuted fractures of tubular bones in dogs / S. Semenyak // Ветеринарна медицина України. – 2014. – № 9. – С 27–29.

Статья передана в печать 15.04.2015 г.

УДК 619:617.51-089.5:634.2

ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С БОЛЕЗНЯМИ ПАЛЬЦЕВ

Руколь В.М.

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

Гистоморфологическая оценка тканей позволяет судить о высокой терапевтической эффективности разработанной схемы комплексного лечения коров с язвами в области пальцев. Применение комплексной терапии коров с язвами венчика, мякши и свода кожи межпальцевой щели позволяет сократить сроки лечения в среднем на 3,8 суток.

Gistomorfologicheskoy estimation of fabrics allow to judge high therapeutic efficiency of the developed scheme of complex treatment of cows with ulcers in the field of fingers. Application complex therapies of cows from an ulcer of a nimbus, a crumb and the arch of a skin of an intermanual crack allows to reduce treatment terms on the average to 3,8 days.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, гнойный, некротический, конечности, язва, Биохелат-гель, Биохелат-концентрат, гипохлорит натрия.

Keywords: cattle, purulent, necrotic, extremities, ulcer, Biohelat-gel, Biohelat-concentrate, sodium hypochlorite.

Введение. Значимость агропромышленного комплекса для роста национальной экономики трудно переоценить. На современном этапе сельское хозяйство представляет собой первостепенную, по важности для любой страны, отрасль производства. В условиях перманентного мирового экономического кризиса, агропромышленный комплекс обеспечивает население высококачественной и доступной всем слоям общества продукцией, служит основой национальной продовольственной безопасности республики и является стабильным источником поступления валютных ресурсов в финансовый сектор государства. Поэтому работники сельского хозяйства и всех связанных с ним производств, служб, ведомств и научных коллективов обязаны неустанно трудиться для повышения количества и качества выпускаемой продукции и роста рентабельности сельскохозяйственного производства и перерабатывающих предприятий промышленности [2, 3, 4, 5, 6, 7].

Промышленное производство молока базируется на тесной связи организационно-технических, социально-экономических и биологических систем. Связующим звеном, обеспечивающим их органическое единство, является биологическая система - животный организм. Высокопродуктивные коровы – это сложнейшая молочная лаборатория. Пока будут игнорироваться научно обоснованные требования по кормлению, основным технологическим и лечебно-профилактическим условиям работы на молочных комплексах и фермах, будет увеличиваться количество больных животных, уменьшаться надои и сокращаться сроки использования коров [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8].

Создание крупных комплексов с высоким уровнем механизации производственных процессов и большой концентрацией животных на ограниченных площадях является неотъемлемым условием перевода животноводства на промышленную основу. Такая технология животноводства при всех ее положительных чертах послужила причиной возникновения массовых хирургических заболеваний. Только здоровая корова может давать наивысшую продуктивность. Для движения и комфортного состояния корове необходимы хорошие, здоровые конечности и копыта. При болезнях конечностей коровы меньше едят, естественно, снижается их продуктивность и качество получаемого молока [1, 4, 5, 6, 7, 8].

Многие хозяйства республики ориентируются на разведение высокопродуктивных коров с высоким потенциалом производства молока. Изменение условий кормления и содержания коров ведет к снижению резистентности организма и предрасполагает к возникновению заразных и незаразных заболеваний у крупного рогатого скота и особенно у высокопродуктивных коров. В настоящее время одной из основных проблем хирургической патологии у крупного рогатого скота молочного направления являются гнойно-воспалительные заболевания дистального отдела конечностей. По мере повышения удоя до 5000 кг молока в год и более у коров отмечается рост заболеваемости. Хирургические болезни занимают до 40% от всех незаразных заболеваний. Из них 50-80% приходится на заболевания дистальных участков конечностей и преимущественно копыт. Экономические потери при заболеваниях пальцев и копыт довольно внушительные. Только из-за деформации копыт молочная продуктивность снижается до 50% и более. А на 100 переболевших коров недополучается до 17 телят, приходится выбраковывать до 40% животных, уменьшается прирост живой массы. Каждая третья высокопродуктивная корова имеет типичные признаки разрушения копыт с последующей хромотой и выбраковкой [1, 2, 3, 7, 8].

Квалифицированное лечение животных с гнойно-некротическими болезнями конечностей остается одной из самых непростых и актуальных задач для врачей ветеринарной медицины. Лечение крупного рогатого скота при гнойно-некротических болезнях должно включать в себя, прежде всего, стимуляцию защитных сил самого организма с одновременной этиопатогенетической терапией. Большинство препаратов, предназначенных для лечения животных с гнойно-некротическими процессами, характеризуются выборочным и узконаправленным действием. Как правило, применяются антибиотики, сульфаниламиды, для которых ограничена чувствительность возбудителей инфекции. Длительное и бесконтрольное использование антибиотиков привело к резкому повышению вирулентности возбудителей раневой инфекции, а нарушение условий содержания и кормления животных значительно снижает их резистентность. Для эффективного лечения животных необходимо обеспечить постоянную концентрацию антимикробных веществ, что является

сложной задачей, как при местном, так и при общем применении препаратов. Этого можно достичь путем иммобилизации лекарственных веществ на основу, которая обеспечивает более продолжительную по времени передачу препарата при однократном его применении. В таких условиях традиционные методы лечения становятся неэффективными. Многочисленные испытания доказали, что экологически чистыми, имеющими высокую лечебную эффективность, экономическую целесообразность, практически полное отсутствие противопоказаний и положительное влияние на молочную продуктивность и качество молока у дойных коров оказываются хелатные соединения [2, 3, 7, 8].

Вопросы разработки и внедрения новых экономически оправданных организационно-технологических мероприятий, оборудования, инструмента, более эффективных методов профилактики и схем лечения хирургических болезней остаются актуальными. Поиск и внедрение в ветеринарную медицину наиболее простых, доступных, эффективных, экономически оправданных средств профилактики травматизма и способов лечения хирургических болезней является задачей ближайшего времени. Эффективность применения методов и средств при лечении животных возможна только с учетом комплексной оценки состояния всех тканей организма с использованием современных методик, в том числе и гистоморфологических исследований.

Целью исследований явилась гистоморфологическая оценка тканей при комплексном лечении крупного рогатого скота с язвами в области пальцев.

Материал и методы исследования. Исходя из актуальности и масштабности распространения гнойно-некротических болезней дистального отдела конечностей, согласно направлению научного исследования, разработана комплексная схема лечения крупного рогатого скота. Комплексная схема лечения включала применение новых современных схем повышения иммунной реактивности организма в сочетании с использованием для местной терапии экономически оправданных импортозамещающих препаратов. Для подтверждения влияния комплексной схемы лечения на состояние тканей организма проводили гистологическое исследование биоптатов тканей.

В опыте использовались две (подопытная и контрольная) группы коров в возрасте 3-6 лет. Группы подбирали по принципу условных аналогов (порода, возраст, живая масса, клинические признаки и места локализации патологического процесса).

Коровам подопытной группы (10 голов) внутривенно вводили раствор гипохлорита натрия (концентрацией 350 мг/л) в дозе 400 мл, омагниченный ПМП индукцией 80 мТл в сочетании с внутрисосудистой фотомодификацией крови аппаратом ОВК-3 длиной волны 290-600 нм.

Коровам контрольной группы (10 голов) интравазально применяли 0,5% раствор новокаина, омагниченный ПМП индукцией 80 мТл, в дозе 0,5 мл на 1 кг живой массы животного в сочетании с внутрисосудистой фотомодификацией крови аппаратом ОВК-3 длиной волны 290-600 нм.

Общее лечение проводили трехкратно до начала проведения опыта на третьи и шестые сутки исследования.

Местное лечение состояло в том, что перед началом лечения коровам подопытной и контрольной групп проводили функциональную расчистку копыт, механическую очистку кожи вокруг язвы, удаление с поверхности язвы некротизированных тканей. Затем изъязвленную поверхность обрабатывали 3%-ной перекисью водорода и водным раствором фурацилина (1:5000). Высушивали повреждения и кожу вокруг тампонированием.

Коровам подопытной группы в дальнейшем для лечения применяли:

в первый день лечения препарат «Биохелат-гель», нанося его на изъязвленные поверхности шпательем. Накладывали защитную бинтовую повязку;

через 6 дней повязку снимали, проводили механическую очистку кожи вокруг язвы. Обрабатывали поверхность 3%-ной перекисью водорода, водным раствором фурацилина (1:5000). Высушивали повреждения и кожу вокруг тампонированием. Применяли препарат «Биохелат-гель», нанося его на поверхность язвы шпательем. Давали гелю высохнуть в течение нескольких минут прежде, чем расфиксировать конечность;

на девятый день (после механической очистки копыт струей воды) проводили лечение препаратом «Биохелат-концентрат» методом опрыскивания под давлением 10%-ного раствора препарата из ранцевого распылителя;

на 14-й день (после механической очистки копыт струей воды) проводили лечение препаратом «Биохелат-концентрат» методом опрыскивания под давлением 5%-ного раствора из ранцевого распылителя.

В дальнейшем после механической очистки копыт струей воды с профилактической целью каждый 7 день проводили обработку дистального отдела конечностей препаратом «Биохелат-концентрат» методом опрыскивания под давлением 5%-ного раствора препарата из ранцевого распылителя.

Животным контрольной группы после предварительной очистки обработку язв проводили растворами антисептиков, затем припудривали сложным порошком борной кислоты с перманганатом калия 1:1 и накладывали защитную повязку. На третьи сутки лечения проводили перевязку и в дальнейшем использовали в качестве лечебного средства линимент Вишневского. Перевязку проводили через 72 часа до исчезновения клинических признаков заболевания.

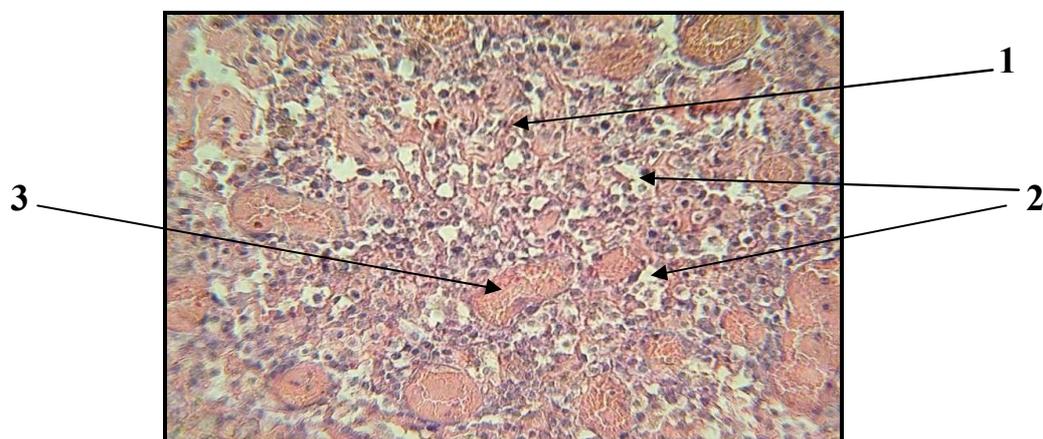
Для изучения структурно-функциональных перестроек тканей в процессе лечения коров при применении препаратов «Биохелат-гель» и «Биохелат-концентрат» с одновременной фотомодификацией крови аппаратом ОВК-3 и омагничиванием, при использовании для инфузии раствора гипохлорита натрия проводили взятие материала для гистологического исследования на границе здоровой и поврежденной ткани до лечения, а затем на 6-е, 14-е и 21-е сутки лечения. Взятие биоптата выполняли с соблюдением правил асептики и антисептики и после предварительно проведенной проводниковой анестезии 2%-ым раствором новокаина.

Биопсированные кусочки тканей фиксировали в 10%-ом растворе нейтрального формалина. Изготовление гистопрепаратов проводили по общепринятой методике [Меркулов Г.А., 1969]. Окраску гистосрезов для обзорного изучения осуществляли гематоксилин-эозином. Исследование гистопрепаратов проводили с помощью светового микроскопа «Olympus BX-51» с системой фото- и видеофиксации

изображения «Olympus EX-25». На срезах выявляли характер воспаления, процессы грануляции, клеточный состав.

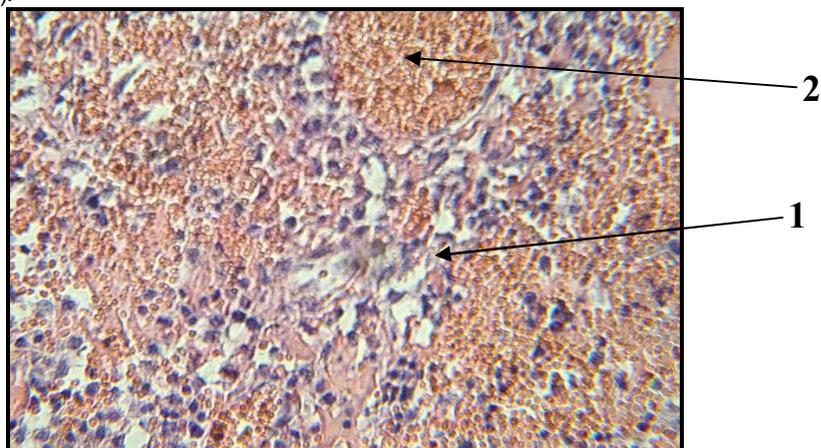
Результаты исследований. В результате проведенных исследований установлено, что оказание своевременной квалифицированной лечебной помощи позволяет сократить сроки лечения, экономить затраты и способствовать быстрейшему введению больного животного в основное стадо с целью получения большого количества качественной продукции. После проведения функциональной расчистки, хирургической обработки патологического процесса и применения комплексной схемы лечения (в качестве общего лечения применялось внутривенное введение раствора гипохлорита натрия (концентрацией 350 мг/л) в дозе 400 мл, омагниченного ПМП индукцией 80 мТл в сочетании с внутрисосудистой фотомодификацией крови аппаратом ОВК-3 длиной волны 290-600 нм и в качестве местной терапии применялись разработанные импортозамещающие препараты «Биохелат-гель» и «Биохелат-концентрат» в подопытной группе наблюдалось значительное улучшение клинического состояния животного. У животных подопытной группы исчезновение хромоты отмечалось к 14-м суткам, а в контрольной группе - к 21-м суткам исследования. В подопытной группе к 14-м суткам исследования отечности тканей не было, в то время в контрольной она сохранялась и после 14-х суток. Болезненность и местная температура в обеих группах диагностировалась до 9-х суток исследования. Прекращение выделения экссудата происходило на $6,32 \pm 0,560$ сутки опыта. Очищение язвенной поверхности было на $2,42 \pm 0,280$ суток раньше в подопытной группе, чем в контрольной группе. Рост грануляционной ткани у животных подопытной и контрольной групп отметили в среднем, начиная с 6-х суток опыта. Клиническое выздоровление коров с язвами в подопытной группе (на $16,8 \pm 1,74$ сутки лечения) произошло в среднем на 3,8 суток быстрее, чем в контрольной группе (на $20,6 \pm 2,85$ сутки).

При гистологическом исследовании тканей, полученных путем биопсии из области патологических очагов (язв), было установлено, что до применения лечения наблюдали фрагментированные волокна соединительной ткани (1), отек межволоконистой рыхлой соединительной тканей (2) и инфильтрацию лимфоцитами (3) и макрофагами (рисунок 1). Эпителий в зоне поражения отсутствовал.



1—фрагментированные волокна соединительной ткани; 2—отек ткани; 3—лимфоциты
Рисунок 1 – Микрофото. Биоптат тканей области пальцев коровы. До лечения. Участок ткани с зоной некроза. Окраска гематоксилин-эозином. X-600

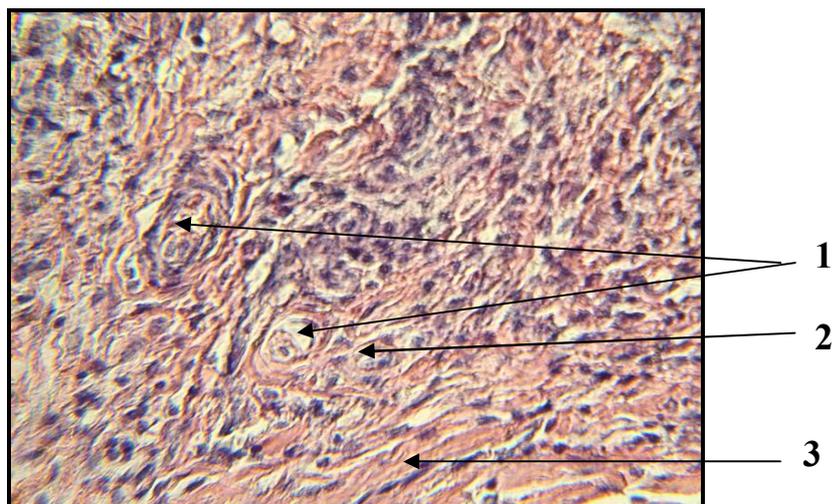
У животных подопытной группы на 6-е сутки в тканях с места поражения клеточная инфильтрация (1) менее выражена (рисунок 2).



1 – клеточная инфильтрация ткани; 2 – формирование кровеносных сосудов
Рисунок 2 – Биоптат тканей области пальцев коровы. 6-е сутки лечения. Окраска гематоксилин-эозином. X-250

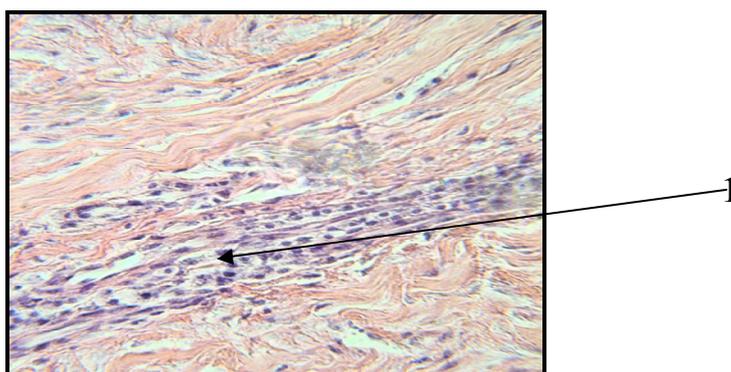
Отмечали более раннее формирование сосудов (2) в зоне некроза, в отличие от контрольной группы, а также снижение воспалительной гиперемии и серозного воспалительного отека и уменьшение площади зоны некроза. По периферии в некоторых местах обнаруживались отдельно локализованные молодые камбиальные клетки эпителия. В подопытной группе на 14-й день исследования отмечали преобладание регенеративных

процессов, характеризующихся появлением множества кровеносных сосудов (1) и активным ростом и дифференцировкой соединительной ткани (с формированием волокон) и фиброцитов (3) (рисунок 3). На периферии язвенных очагов наблюдался диффузный рост камбиальных и промежуточных клеток эпителия.



1 – кровеносные сосуды; 2 – фибробласты; 3 – фиброциты
Рисунок 3 – Биоптат тканей области пальцев. 14-е сутки лечения. Образование молодой соединительной ткани. Окраска гематоксилин-эозином. X-250

На 21-е сутки исследований в подопытной группе наблюдали сформировавшуюся и дифференцированную волокнистую соединительную ткань с небольшими очагами продолжающейся грануляции (1) (рисунок 4). Воспалительная реакция в виде макрофагально-лимфоцитарных гранулоцитов отсутствует. Эпителизация язвенного очага произошла на всей поверхности.



1 – незначительный очаг грануляции
Рисунок 4 – Биоптат тканей области пальцев коровы. 21-е сутки лечения. Формирование соединительной ткани. Окраска гематоксилин-эозином. X-250

В контрольной группе на шестые сутки исследования наблюдалась интенсивная сосудистая реакция, выражающаяся в кровоизлиянии с обильным выходом эритроцитов в окружающие ткани.

На 14-е сутки исследования в контрольной группе наблюдали как лимфоидно-макрофагальные пролифераты, так и сформировавшиеся гранулемы. Также отмечали диффузные пролифераты между фрагментированными волокнами соединительной ткани. Отечность тканей дермы была слабая. Начали образовываться очаги молодой грануляционной ткани с преобладанием фибробластов.

На 21-е сутки исследования в контрольной группе наблюдали формирование широкого демаркационного вала вокруг зоны некроза с образованием капсулы из плотной волокнистой соединительной ткани. По периферии язвенного очага отмечался рост эпителиальных клеток. Таким образом, организм коров реагировал на язвенный процесс путем изоляции (инкапсуляции) здоровых тканей от тканей, подвергшихся некрозу, в отличие от подопытной группы, в которой произошло практически полное восстановление тканей в течение 21 суток.

Заключение. Гистоморфологические исследования тканей позволяют судить о высокой терапевтической эффективности разработанной схемы комплексного лечения коров (в качестве общего лечения внутривенно вводили раствор гипохлорита натрия (концентрацией 350 мг/л) в дозе 400 мл, омагниченный ПМП индукцией 80 мТл в сочетании с внутрисосудистой фотомодификацией крови аппаратом ОВК-3 длиной волны 290-600 нм и в качестве местной терапии применяли разработанные препараты «Биохелат-гель» и «Биохелат-концентрат») с гнойно-некротическими заболеваниями (язвы венчика, мякиша и свода кожи межпальцевой щели). Клиническое выздоровление коров с язвами в подопытной группе происходило в среднем на 3,8 суток быстрее, чем в контрольной группе. Гистологическим исследованием биоптата тканей, взятых из мест локализации язв в области пальца на 21-е сутки, установлена сформировавшаяся дифференцированная волокнистая соединительная ткань с небольшими очагами

продолжающейся грануляции. Воспалительная реакция в виде макрофагально-лимфоцитарных гранулоцитов отсутствует. Эпителизация язвенного очага произошла на всей поверхности.

Литература. 1. Ветеринарные мероприятия на молочных комплексах: пособие (производственно-практическое издание) / Э. И. Веремей, В. А. Журба, В. М. Руколь. – Минск : Белорусское сельское хозяйство, 2010. – 28 с. 2. Гимранов, В. В. Обоснование и разработка комплексных методов диагностики, лечения и профилактики гнойно-некротических поражений в области пальцев у крупного рогатого скота : дис. ... д-ра вет. наук : 16.00.05 / В.В. Гимранов. – Казань, 2006. – 300 с. 3. Ермолаев, В. А. Этиология, распространение заболеваний копытцев крупного рогатого скота в зимне-стойловый период / В. А. Ермолаев [и др.] // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения : материалы Международной научно-практической конференции. – Ульяновск: Ульяновская ГСХА, 2009. – Т. 3. – С. 49–52. 4. Клиническая хирургия в ветеринарной медицине : учебное пособие для студентов вузов по специальности "Ветеринарная медицина" / Э. И. Веремей, А.А. Стекольников, Б. С. Семенов, О. К. Суховольский, В. М. Руколь, В. А. Журба, В. А. Ходас, А. А. Маценович ; ред.: Э. И. Веремей, А. А. Стекольников. – Минск : ИВЦ Минфина, 2010. – 598 с. 5. Общая хирургия ветеринарной медицины : учебник для студентов вузов, обучающихся по специальности "Ветеринария" / Э. И. Веремей, А. А. Стекольников, Б. С. Семенов, О. К. Суховольский, В. М. Руколь, А. А. Маценович, В. А. Журба, В. А. Ходас ; ред.: А. А. Стекольников, Э. И. Веремей. – Санкт-Петербург : КВАДРО, 2012. – 599 с. 6. Руколь, В. М. Мероприятия при хирургической патологии крупного рогатого скота на молочных комплексах Гомельской области : рекомендации / В. М. Руколь, В. А. Журба, Э. И. Веремей ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск : ВГАВМ, 2011. – 28 с. 7. Руколь, В. М. Технологические основы ветеринарного обслуживания молочного крупного рогатого скота с хирургическими болезнями в Республике Беларусь : автореф. дис. ... д-ра ветеринарных наук : 06.02.04 / В. М. Руколь ; Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины. – Санкт-Петербурге, 2013. – 38 с. 8. Руколь, В. М. Технологические основы ветеринарного обслуживания молочных комплексов при массовой хирургической патологии : методические рекомендации / В. М. Руколь, А. А. Стекольников, Э. И. Веремей ; Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Санкт-Петербург : ФГОУ ВПО СПбГАВМ, 2012. – 27 с.

Статья передана в печать 27.03.2015 г.

УДК 636.4.082.35:615.849.19

ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКИХ ИНТЕНСИВНОСТЕЙ НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ПОРОСЯТ РАННЕГО ВОЗРАСТА

Себежко О.И., Короткевич О.С., Петухов В.Л.

ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет», г. Новосибирск, Российская Федерация

В статье приводятся данные научных исследований, посвященных изучению влияния низкоинтенсивного лазерного излучения на фенотипическую изменчивость гематологических показателей поросят раннего возраста. Установлено, что как трёхкратное, так и пятикратное воздействие НИЛИ оказывает сходные изменения гематологических показателей у поросят раннего возраста, проявляющиеся нормализующим эффектом и снижением фенотипической изменчивости. Максимальную чувствительность к влиянию лазерного облучения показали такие гематологические показатели, как скорость оседания эритроцитов и содержание лимфоцитов.

The article presents data from scientific researches devoted to studying influence of low-intensity laser radiation on the phenotypic variability of hematological parameters of pigs early age. It is ascertained that both the three-fold and five-fold effect of LLLT has similar changes of hematological parameters in pigs early age that appear a normalizing effect and decrease phenotypic variability. Erythrocyte sedimentation rate and lymphocyte counts demonstrated optimal sensitivity to laser radiation.

Ключевые слова: низкоинтенсивное лазерное излучение, поросята раннего возраста, гематологические показатели, лейкоцитарная формула, скороспелая мясная порода свиней

Keywords: low-intensity laser radiation, pigs early age, hematologic parameters, leucocytes formula, Meat-Ripe pigs

Введение. В настоящее время современной наукой и практикой постоянно разрабатываются новые методы повышения иммунного статуса и устойчивости к заболеваниям сельскохозяйственных животных. Сегодня потребитель чрезвычайно требователен к продукции животноводства и в связи с этим предпочтение отдаётся безопасным с экологической точки зрения и экономически эффективным технологиям содержания животных. [5,7,9] Таким требованиям в полной мере соответствует лазерное излучение низких интенсивностей, которое, являясь безопасным биофизическим фактором, способно повысить естественную резистентность организма свиней, находящихся в условиях избыточных стресс-факторами промышленных комплексов и, следовательно, улучшить показатели продуктивности [8,10,11].

Лазерное излучение получило широкое распространение в различных областях биологии, медицины и ветеринарии вследствие того, что протекающие фотобиологические реакции ведут к большому числу биохимических и физиологических реакций в организме [1,2,4,11]. Характер взаимодействия лазерного излучения с организмом зависит от множества факторов: состояния самого организма, свойств кожи, физических параметров излучения, длины волны [4,6].

Лазерное излучение представляет собой когерентное монохроматическое поляризованное электромагнитное излучение, вызывающее фотофизические и фотохимические реакции. Наибольшей фотобиологической активностью обладает свет в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях спектра. Наиболее широкое распространение получили лазеры красного и инфракрасного спектра (ИК) (0,8 – 1,4 мкм), которые обладают наибольшей проникающей способностью и биостимулирующим действием [1,4,6].

Поскольку при воздействии низких интенсивностей ИК-лазерного излучения не возникает выраженный фотохимический эффект, особое значение приобретает нейрорефлекторная теория. В ней нашли отражение положения о том, что лазерное излучение активизирует рецепторы кожи, связанные с нервными окончаниями афферентных нервов, по которым импульсы, возникающие при действии монохроматического света активируют центральную нервную систему и способствуют проявлению рефлекторных реакций на разных уровнях нервной системы. Данная теория лежит в основе лазеропунктуры. Воздействие на точки акупунктуры монохроматическим когерентным излучением, является наиболее целесообразным. Использование лазеропунктуры позволяет увеличить эффективность лазерного воздействия и получить эффект пролонгированного действия [1,2,3,6].

Применяя различные параметры воздействия ЛИ можно с достаточно высокой уверенностью добиться желаемых биологических эффектов. Основным поглощающим компонентом при воздействии ИК лазерным излучением с длиной волны 0,89 мкм является кровь, поэтому важно исследовать изменения в функционировании гемопоэтических систем. Кровь относится к тканям с высокой пролиферативной активностью. Под действием ЛИ происходит усиление окислительного фосфорилирования, активизация цитохромов митохондрий и увеличение выработки АТФ, тем самым усиливая пролиферацию. Однако ЛИ не только стимулирует пролиферацию, но и обладает моделирующим действием, оптимизируя не только состав клеток тканей, но и их взаимодействие [2,3].

Материал и методы исследований. Объектом исследования были поросята скороспелой мясной породы в возрасте 3-х недель. Животные были разделены на опытную и контрольную группы. В опытной группе животных подвергались воздействию низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) с помощью прибора «Мустанг 017» на БАТ контролирующего, или дорсального срединного канала поросят. Контролирующий канал начинается от конца хвоста, проходит по всему позвоночнику, затем идёт по срединной линии головы до точки, лежащей на верхней губе. Данный меридиан контролирует половину всех меридианов, при воздействии на его биологически активные точки нервные импульсы будут следовать от периферии к управляющим органам.

В исследовании были использованы две зоны контролирующего канала: дорсальная точка позади пятка и средняя область, захватывающая точки, расположенные между остистыми отростками шейных и грудных позвонков.

При пятикратном воздействии НИЛИ во время первой процедуры использовали лазерное излучение с длиной волны 0,89 мкм, частотой 600 Гц, мощностью 2 мВт и экспозицией 20 секунд. При второй процедуре увеличивали время воздействия до 32 секунд, мощность до 3 мВт, другие параметры оставались без изменения. В третьей процедуре повышали мощность до 4 мВт при неизменной длине волны, экспозиции и частоте. Для четвёртой процедуры применяли мощность до 5 мВт, время воздействия 64с. При пятой процедуре использовали мощность 5 мВт, частота 600 Гц.

При трёхкратном воздействии во время первой процедуры применяли лазер с длиной волны 0,89 мкм, частотой 80 Гц, мощностью 5 мВт и экспозицией 32 секунды. При второй процедуре экспозицию увеличивали до 64 с. В третьей – увеличивали мощность до 6 мВт. Все процедуры проводились через день. Для облучения использовали излучатель МЛО1К.

До и после эксперимента у животных бралась кровь из краниальной поллой вены. В качестве антикоагулянта использовали 3,8% цитрат натрия. Все гематологические исследования проводили общепринятыми унифицированными лабораторными методами.

Полученные данные обработаны статистически с использованием программы FOXT «Формирование и анализ научных данных по биологии и селекции в животноводстве» (Дементьев В.Н.), Statistica фирмы Stat Soft (США), и Excel корпорации Microsoft. Тестирование соответствия имеющихся распределений нормальным проводили при помощи критерия Колмогорова-Смирнова. Достоверность разности между средними значениями оценивали с помощью критерия Стьюдента (t_d – критерий) и Фишера F (ϕ).

Результаты исследований. Анализ количественных гематологических показателей поросят, определяемых в их жидкой крови отражает высокую фенотипическую изменчивость. Самое высокое варьирование отмечалось при оценке скорости оседания эритроцитов за счёт значительных колебаний верхней границы лимита.

При пятикратном воздействии НИЛИ изменение дозы достигается за счёт варьирования экспозиции облучения и частоты импульсного режима. При исследовании было установлено, что все изучаемые показатели находились в пределах референтных величин для данного возраста. При исследовании гематологических показателей отмечено снижение цветового показателя ($P < 0,05$) в сыворотке крови поросят опытной группы при пятикратном облучении НИЛИ, что указывает на наличие фотобиологического эффекта, связанного с поглощением инфракрасного лазерного излучения гемоглобином (таблица1).

Таблица 1 - Влияние лазерного излучения на гематологические показатели поросят

Показатель	Группа	$\bar{X} \pm s \bar{X}$	σ	C_v	Lim
Эритроциты, $10^{12}/л$	Опытная	$5,69 \pm 0,13$	1,96	34,5	1,00 — 10,00
	Контрольная	$5,09 \pm 0,37$	2,27	44,6	1,5 — 10,90
Гемоглобин, г/л	Опытная	$92,14 \pm 4,50$	24,23	26,3	39,0 — 137,0
	Контрольная	$90,71 \pm 5,86$	36,11	39,8	33,0 — 166,0
СОЭ, мм/л	Опытная	$2,16 \pm 0,16$	0,88	40,6	0,10 — 4,00
	Контрольная	$2,07 \pm 0,21$	1,3	62,6	0,10 — 5,50
Цветной показатель	Опытная	$0,47 \pm 0,02^*$	0,10	21,0	0,23 — 0,71
	Контрольная	$0,55 \pm 0,03$	0,19	35,5	0,19 — 1,24
Лейкоциты, 10^9	Опытная	$10,41 \pm 0,92$	4,95	47,5	2,80 — 27,30
	Контрольная	$8,9 \pm 0,71$	4,34	48,8	4,30 — 26,60

Пятикратное воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения на контролирующий или дорсальный срединный меридиан поросят привело к снижению количества лимфоцитов ($P < 0,05$) до нормы животных опытной группы (таблица 2). При этом возросло число животных, у которых нижняя граница количества лимфоцитов стала значительно выше (от 9 до 27% и более). Это связано с тем, что лазеротерапия способствует уменьшению воспалительных процессов в организме и активизации его защитных сил. Следует отметить, что ряд параметров лейкоформулы (эозинофилы, палочкоядерные нейтрофилы и др.) характеризовались очень большой фенотипической изменчивостью.

Таблица 2 - Влияние лазерного излучения на состав лейкоформулы поросят, %

Показатель	Группа	$\bar{X} \pm s \bar{X}$	σ	Lim
Эозинофилы	Опытная	$0,97 \pm 0,19$	5,90	0,01 — 3,00
	Контрольная	$0,61 \pm 0,13$	4,93	0,01 — 3,00
Палочкоядерные нейтрофилы	Опытная	$2,03 \pm 0,41$	46,44	0,01 — 9,00
	Контрольная	$1,43 \pm 0,23$	38,41	0,01 — 5,00
Сегментоядерные нейтрофилы	Опытная	$34,90 \pm 2,90$	1,57	10,00 — 64,00
	Контрольная	$34,76 \pm 2,20$	1,19	13,00 — 78,00
Лимфоциты	Опытная	$50,62 \pm 3,40^*$	0,54	27,00 — 82,00
	Контрольная	$58,40 \pm 2,52$	0,38	9,00 — 75,00
Моноциты	Опытная	$5,14 \pm 0,59$	1,13	1,00 — 12,00
	Контрольная	$4,77 \pm 0,63$	2,10	0,01 — 17,00

При трёхкратном воздействии НИЛИ (таблица 3) отмечается тенденция к увеличению количества эритроцитов и гемоглобина в опытной группе поросят, что, видимо, характеризуется активизирующей функцией красного костного мозга.

Таблица 3 – Влияние НИЛИ на гематологические показатели поросят

Показатель	Группа	$\bar{X} \pm s \bar{X}$	σ	C_v	Lim
Эритроциты, $10^{12}/л$	Опытная	$5,84 \pm 0,41$	2,01	34,4	3,30 — 10,00
	Контрольная	$5,04 \pm 0,16$	1,54	30,5	2,00 — 9,10
Гемоглобин, г/л	Опытная	$111,91 \pm 7,41$	36,32	32,5	54,0 — 21,0
	Контрольная	$96,92 \pm 3,44$	32,80	33,8	13,0 — 169,0
СОЭ, мм/л	Опытная	$1,00 \pm 0,18^{**}$	0,88	88,2	0,10 — 3,00
	Контрольная	$3,33 \pm 0,51$	4,83	145,3	0,10 — 26,50
Цветной показатель	Опытная	$0,57 \pm 0,04$	0,20	34,5	0,22 — 1,17
	Контрольная	$0,60 \pm 0,02$	0,19	31,1	0,16 — 1,06
Лейкоциты, 10^9	Опытная	$9,971 \pm 1,18$	5,77	57,9	2,30 — 29,00
	Контрольная	$8,85 \pm 0,87$	8,34	94,2	2,60 — 79,00

Скорость оседания эритроцитов у поросят контрольной группы характеризовалась очень большой изменчивостью. Снижение уровня СОЭ ($P < 0,01$) в опытной группе, как и снижение фенотипической изменчивости данного показателя характеризует нормализующее влияние НИЛИ и, вероятно, связано как с компенсаторным эритроцитозом, так и с противовоспалительным действием.

При оценке форменных элементов в составе лейкограммы у поросят после трёхкратного воздействия ультразвука не выявлено достоверных изменений (таблице 4). Однако под действием НИЛИ в опытной группе отмечается снижение фенотипической изменчивости по большинству показателей. По некоторым параметрам отмечаются те же тенденции, что и при пятикратном использовании НИЛИ – возрастает количество эозинофилов, моноцитов и снижается, приближаясь к норме, количество лимфоцитов.

Интегративная оценка лейкограммы является одним из способов адаптационных реакций организма животных к воздействию НИЛИ. Отношение числа лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам и сопоставление этого показателя с уровнем эозинофилов и моноцитов позволяет охарактеризовать стадии стресс-реакции после воздействия различных биофизических факторов, в том числе и НИЛИ. Была отмечена закономерность, выражающаяся в уменьшении соотношения лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов в крови поросят к уровню эозинофилов и моноцитов после воздействия НИЛИ. После пятикратного воздействия НИЛИ данное соотношение снизилось с 0,31 до 0,24, а после пятикратного – с 0,53 до 0,32. Поскольку моноциты относятся к системе мононуклеарных фагоцитов, то можно говорить о повышении естественной резистентности организма.

Таблица 4 - Влияние НИЛИ на состав лейкоформулы поросят, %

Показатель	Группа	$\bar{X} \pm s \bar{X}$	σ	C_v	Lim
Эозинофилы	Опытная	1,21 ± 0,29	1,43	118,4	0,01 — 4,00
	Контрольная	0,75 ± 0,12	1,09	144,9	0,01 — 5,00
Палочкоядерные нейтрофилы	Опытная	2,96 ± 0,38	1,88	63,4	0,01 — 7,00
	Контрольная	3,46 ± 0,33	3,11	89,9	0,01 — 15,00
Сегментоядерные нейтрофилы	Опытная	35,00 ± 2,78	13,61	38,9	12,00 — 60,00
	Контрольная	29,41 ± 1,41	13,41	45,6	8,00 — 71,00
Лимфоциты	Опытная	56,96 ± 3,01	14,73	25,9	35,00 — 81,00
	Контрольная	63,09 ± 1,53	14,49	23,0	16,00 — 90,00
Моноциты	Опытная	3,88 ± 0,72	3,54	91,2	0,01 — 12,00
	Контрольная	3,27 ± 0,25	2,37	72,4	0,01 — 12,00

Заключение. Проведённые исследования установили, что как трёхкратное, так и пятикратное воздействие НИЛИ оказывает сходные изменения гематологических показателей у поросят раннего возраста, проявляющиеся нормализующим эффектом и снижением фенотипической изменчивости. Максимальную чувствительность к влиянию лазерного облучения показали такие гематологические показатели, как скорость оседания эритроцитов и содержание лимфоцитов.

Воздействие низкоинтенсивного лазерного излучения с небольшими дозами и экспозициями оказывает благоприятное влияние на организм поросят, что позволяет животным легче адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды.

Литература. 1. Котомина Г.А. Влияние лазерного излучения инфракрасного спектра на скорость роста поросят / Г.А. Котомина, О.И. Себежко // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. 2011. Т. 4. № 20. С. 67-71. 2. Орёл Н.М. Воздействие низкоинтенсивным лазерным излучением на область биологически активных точек для коррекции биохимических нарушений в печени крыс с экспериментальным внутрипеченочным холестазом / Н.М. Орёл, Е.С. Пышко, А.М. Лисенкова, Т.А. Железнякова // Лазеры. Измерения. Информация: Сб. науч. статей международной конф., Санкт-Петербург, 5–7 июня 2011 г. / С.-Пб. Гос. политехн. ун-т. – С.-Пб.: Изд-во Политехн. ун-та, 2012. – С. 65-66. 3. Орёл Н.М. Биохимическая оценка состояния крыс с холестазом при сочетании действия лактоферрина и низкоинтенсивного лазерного излучения на биологически активные точки / Н.М. Орёл, А.М. Лисенкова, Е.С. Пышко, Е.П. Тюркина // Медэлектроника 2012/ Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии. Сб. науч. статей 7-й международной научно-технической конф., 13-14 декабря 2012 г. Минск: БГУРИР, 2012. – С. 27-29. 4. Петухов В.Л. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на минеральный состав сыворотки крови и щитовидной железы поросят / В.Л. Петухов, О.И. Себежко, О.С. Короткевич // Ученые записки учреждения образования "Витебская ордена "Знак почета" государственная академия ветеринарной медицины". 2013. Т. 49. № 2-1. С. 310-314. 5. Способ стимуляции репродуктивной функции у свиноматки: патент 15426 Республики Беларусь, А 61D 19/00 (2006.01), А 61N 5/06 (2006.01) / А.И. Будевич, Е.И. Линкевич, Т.В. Зубова, Е.И. Шейко, Т.Н. Бровко, И.П. Шейко; заявитель и патентообладатель Республиканское унитарное предприятие "Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству". - № а.с. 2008171; заявл. 30.12.08; опубл. 28.02.12. 6. Себежко О.И. Клинический эффект лазерного излучения низкой интенсивности у поросят с бронхопневмониями / О.И. Себежко, Г.А. Котомина // Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. 2011. Т. 3. № 19. С. 90-94/ 7. Себежко О.И. Гематологический статус скороспелой мясной и крупной белой пород свиней в начальный постнатальный период онтогенеза / О.И. Себежко, В.В. Гарт, В.Н. Деметьев // Достижения науки и техники АПК – 2012. – № 3. – С. 53-55. 8. Себежко О.И. Использование низких интенсивностей лазерного излучения при лечении бронхопневмонии поросят / Вестник Новосибирского государственного аграрного университета. 2010. Т. 3. № 15. С. 98-102. 9. Себежко О.И. Способ стимуляции репродуктивных качеств свиноматок / В.Л. Петухов, О.С. Короткевич, О.И. Себежко, Т.В. Петухова // патент на изобретение RUS 2377772 02.06.2008 10. Себежко О.И. Эффект воздействия ультразвука на биологически активные точки поросят / Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Новосибирский государственный аграрный университет. Новосибирск, 2001. 11. Шейко, И.П.

УДК 619: 616. 618.15-007.636.2.034

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ РОДОВОГО ТРАВМАТИЗМА У КОРОВ И ОСНОВНЫЕ ЕГО ПРИЧИНЫ**Середжимова А.Г., Лазоренко А.Б.**

Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

Определена распространенность родового травматизма у коров, которая составляет 32,0 % от общего маточного поголовья. Однако у коров разных возрастных групп его распространенность отличается. Установлено, что наибольшее количество случаев родового травматизма отмечается у коров-первотелок и животных во время второго отела. Среди всех животных с родовыми травмами коровы-первотелки составляли более половины 57,7 %, а животные после второго отела - 25,8 %, остальные были животные с третьим и последующими отелами. В структуре родового травматизма наибольшую часть составляют травмы мягких тканей родового канала от 94,6 % у коров-первотелок до 77,8 % у животных третьего отела. Травмы опорно-связной основы родового канала отмечались редко у коров старших возрастных групп

Determined the prevalence of birth trauma in cows, which is 32.0 % of the total breeding stock. However, in cows of different age groups prevalence differs. Determined that a large number of cases of birth trauma registers with fresh cows and animals during the second calving. Among all animals with birth traumas cow - heifers accounted for more than half 57.7 %, and the animals after the second calving 25.8 %, with the remaining animals were the third and subsequent calving. The structure of most of the birth trauma belongs to soft tissue injuries of the birth canal and ranges from 94.6 % in fresh cows to 77.8 % in the third calving animals. Injuries bone- ligament basis celebrated the birth canal in a few cases in cows of different age groups.

Ключевые слова: коровы, коровы-первотелки, отел, родовые пути, родовой травматизм, мягкие ткани родовых путей.

Keywords: cow, cows, heifers, calving, birth canal, birth trauma, soft tissue of the birth canal.

Введение. Патологические роды у крупного рогатого скота наносят молочно-товарным хозяйствам значительный экономический ущерб. Этот ущерб обуславливается длительным бесплодием коров, преждевременной их выбраковкой, рождением мертвых и нежизнеспособных телят, возникновением послеродовой патологии, нерентабельным использованием кормов, потерями на лечение больных животных. Прогнозирование, диагностика и предупреждение патологических родов повысят рентабельность молочно-товарных хозяйств [1].

Исследованию родовой патологии у крупного рогатого скота посвящено большое количество работ (Хомин С.П., [5]; Яблонский В.А., [6]; Краевский А.И., [2]; Харута Г.Г., [7]). Факторами, способствующими возникновению патологических родов, могут быть: нарушение технологии выращивания ремонтного молодняка, неполноценное кормление, отсутствие моциона при стойловом содержании животных, которые приводят к снижению общей резистентности организма [2, 7].

Исходя из анализа литературных данных, патологические роды чаще всего возникают вследствие следующих причин:

- Нарушение анатомо-топографических отношений между родовыми путями и организмом плода;
- Несоответствие размеров родового пути размерам плода;
- Слабости родовой деятельности;
- Наличие механических препятствий в родовых путях;
- Неквалифицированного вмешательства в течение родового акта [6].

Родовой травматизм у коров получил широкое распространение в промышленном животноводстве при интенсивном использовании животных. Интенсификация промышленного производства молока требует ускорения оборота маточного стада, в результате чего происходит его омоложение. В то же время нарушение технологии выращивания ремонтных телок приводит к росту частоты родового травматизма у коров-первотелок и коров второй лактации. Повышение количества молодых животных в стаде способствовало увеличению количества тяжелых отелов и родовых травм у коров. Во многих случаях это связано с неквалифицированным, грубым оказанием акушерской помощью роженицы. В результате чего происходят разрывы матки, вульвы и влагалища, повреждения тазового пояса (растяжения и вывихи подвздошно-крестцового сочленения) вывороты и выпадение матки, скручивания ее гематомы и отеки родовых путей и др. все это приводит к снижению плодовитости маточного поголовья [3, 4].

Целью исследований было определение распространенности и причин родового травматизма в зависимости от возраста, упитанности и клинического состояния коров.

Материал и методы исследований. Материалом для исследований послужили коровы возрастом 2-8 лет, массой тела 450-650 кг, со среднегодовой производительностью 8170 тыс. кг молока, Украинской чернопестрой породы. Распространенность родового травматизма определяли путем проведения акушерского исследования коров после отела. При этом учитывали анамнестические данные о соответствии величины

плода родовым путем, его положение, позицию, предлежание, членорасположение и особенности течения стадии вывода плода, наличие родовых травм и их локализацию в разных отделах половых органов коров. Анализ распространенности и причин родового травматизма у коров проводили в зависимости от их возраста, упитанности и вида травм.

Результаты исследований. Доказано, что коровы до и после отела наиболее подвержены различным заболеваниям, поэтому необходимо этим животным создать комфортные условия кормления, содержания и ухода, что не всегда удается, особенно для высокопродуктивных животных [5].

В результате проведения акушерского исследования коров после отела диагностировали травмы родовых путей у 32,0% маточного поголовья. Чаще всего родовый травматизм регистрировали у коров-первотелок, его частота составляла 18,4% от всего маточного стада.

Среди всех животных с родовыми травмами, коровы-первотелки составляли более половины - 57,7%. От общего количества коров-первотелок в 90,3% животных после отела диагностировали родовые травмы.

У коров после второго отела количество животных с родовыми травмами относительно всего маточного поголовья было в 2,2 раза меньше, чем у коров-первотелок. Их количество среди коров с родовыми травмами составило 8,2%, а от всех коров после второго отела травмы родовых путей диагностировали у 28,1% животных (таблица 1).

Таблица 1 – Распространенность родового травматизма у коров разного возраста

Группы животных	Количество родов	Всего травм		Травмы					
				связок костей таза		седалищного нерва		мягких тканей	
				п	%	п	%	п	%
Коровы- первотелки	62	56	<u>90,3</u>	2	<u>3,2</u>	1	<u>1,6</u>	53	<u>85,5</u>
			<u>57,7</u>		<u>3,6</u>		<u>1,8</u>		<u>94,6</u>
			18,4		<u>2,1</u>		<u>1,0</u>		<u>54,6</u>
II отел	89	25	<u>28,1</u>	3	<u>3,4</u>	2	<u>2,2</u>	20	<u>22,5</u>
			<u>25,8</u>		<u>12</u>		<u>8</u>		<u>80,0</u>
			8,2		<u>3,1</u>		<u>2,1</u>		<u>20,6</u>
III отел	60	9	<u>15,0</u>	1	<u>1,7</u>	1	<u>1,7</u>	7	<u>11,7</u>
			<u>9,3</u>		<u>11,1</u>		<u>11,1</u>		<u>77,8</u>
			3,0		<u>0,1</u>		<u>0,1</u>		<u>7,2</u>
IV и больше отелов	94	7	<u>7,4</u>	1	<u>1,1</u>	-	-	6	<u>6,4</u>
			<u>7,2</u>		<u>14,3</u>		-		<u>85,7</u>
			<u>2,3</u>		<u>1,0</u>		-		<u>6,2</u>
Всего	305	97	32,0	7	2,3	4	1,3	86	28,2

Примечания: -% Животных с родовыми травмами относительно возрастной группы;

-% Животных с родовыми травмами возрастной группы от всех травмированных;

-% Животных с родовыми травмами возрастной группы от всех коров стада

Исследуя коров после третьего отела, родовые травмы диагностировали у 15,0% этих животных, что составило по отношению маточного поголовья 3,0%, а от всех коров с родовыми травмами - 9,3%. У животных после четвертого и более отелов процент родовых травм был значительно меньше, чем у более молодых животных. Он составил по стаду - 2,3%, а относительно травмированных животных - 7,2%.

Следовательно, количество случаев родового травматизма у животных среди исследуемых хозяйств было наибольшим среди молодых коров первого и второго отелов и составляло 83,5% от всех животных с зарегистрированными родовыми травмами.

Следует отметить, что после родов диагностировали единичные случаи травм костно-связочной основы родового канала у 0,1 - 3,1% в зависимости от возраста животных. Чаще всего такие травмы регистрировали у молодых коров после первого или второго отела.

Частота травм мягких тканей родовых путей была самой высокой и регистрировалась в среднем у 28,2% коров, что составляло в структуре родового травматизма от 94,6% у коров-первотелок, до 77,8% у животных третьего отела.

В 85,5% коров-первотелок травмы мягких тканей отмечали в виде рваных ран и гематом вульвы, влагалища, шейки матки и редко матки. Родовые травмы коров-первотелок составляли 54,6% от общего количества родового травматизма по стаду. У коров второго отела эти показатели были на уровне 22,5 и 20,6% соответственно, третьего - 11,7 и 7,2 и четвертого и последующих отелов 6,4 и 6,2%. Таким образом, травмирование родовых путей чаще регистрируется у молодых животных во время первого и второго отела. У животных старшего возраста этот показатель значительно уменьшается.

У коров-первотелок основной причиной родовых травм было несоответствие размеров родовых путей величине плода, вследствие чего отмечали рваные раны вульвы, влагалища и шейки матки. С одной стороны это можно рассматривать как рождение крупных плодов у молодых коров, с другой – недоразвитие родовых путей вследствие несвоевременного осеменения телок и нарушения технологии их выращивания, а также ошибки в селекционной работе, в частности использование для ремонта маточного стада животных с узким тазом. Кроме того, причиной уменьшения объема родовых путей может быть, вышесредняя упитанность (свыше 3,5 баллов) животных перед родами, что в большинстве хозяйств является одним из основных этиологических факторов родового травматизма не только у первотелок, но и у взрослых животных.

Высокое место в этиологии родовых травм принадлежит нарушениям позиции, положения, предлежания и расположения конечностей и головы плода при переднем предлежании и хвоста и задних конечностей при заднем предлежании. Остальные причины родового травматизма встречаются редко, как исключение.

Таблица 2 – Основные причины родового травматизма у коров

Показатели	Коровы-первотелки		Коровы					
			II отел		III отел		IV и больше отелов	
	n	%	n	%	n	%	N	%
Неправильная позиция плода	3	5,4/4,8	2	8,0/2,3	1	11,1/1,7	-	-
положение	5	8,9/8,1	2	8,0/2,3	1	11,1/1,7	1	14,3/1,1
Предлежание	4	7,1/6,5	3	12,0/3,4	-	-	-	-
Членорасположение	6	10,7/9,7	1	4,0/1,1	2	22,2/3,3	1	14,3/1,1
Крупноплодие	11	19,6/17,7	5	20,0/5,6	2	22,2/3,3	1	14,3/1,1
Узость таза	11	19,6/17,7	2	8,0/2,3	-	-	-	-
Вульвы	9	16,1/14,5	-	-	-	-	-	-
Рубцы вульвы	-	-	5	20,0/5,6	3	33,3/5,0	2	28,3/2,1
Влагалища	-	-	2	8,0/2,3	1	11,1/1,7	2	28,3/2,1
шейки матки	-	-	1	4,0/1,1	-	-	-	-
Стремительные роды	3	5,4/4,8	2	8,0/2,3	-	-	-	-
Субъективные факторы	7	12,5/11,3	2	8,0/2,3	-	-	-	-
Всего травмированных животных	56	100	25	100	9	100	7	100
Всего животных	62		89		60		94	

У коров второго и третьего отелов на первое место среди причин родового травматизма выходило сужение родовых путей вследствие чрезмерной упитанности животных перед родами и рубцевания влагалища и вульвы после предыдущих родовых травм.

Заключение. Распространенность родового травматизма у коров зависит от их возраста и составляет: у коров-первотелок 57,7%, коров второго отела - 25,8%, третьего - 9,3%, и четвертого и последующих отелов - 7,2%. Чаще всего травмируются мягкие ткани родовых путей, которое составляет от 94,6% у коров-первотелок до 77,8% у животных третьего отела.

Способствующими факторами и причинами родового травматизма у коров-первотелок являются недоразвитие и сужение родовых путей вследствие нарушения технологии их выращивания и подготовки к родам (ожирение), а также крупноплодие, а у старших животных - сужение родовых путей вследствие выше средней упитанности.

Литература. 1. Гауриленко Н.Н. Метод прогнозирования характера течения родов и послеродового периода у коров / Н.Н.Гауриленко // Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных: сб. науч. тр. Воронеж, 2005. - С.54-60. 2. Краевський А.І. Причини травмування родових шляхів під час родів у корів / А.І. Краевський // Вет. Медицина України. – 1999. - №7. – С.42-43. 3. Краевський А.І. Як розрізнити нормальний і ускладнений перебіг пологів у корів / А.І. Краевський // Пропозиція. – 2006. - №8. – С.19-20. 4. Логвинов Д.Д. О массовости патологии родов у первотелок / Д.Д.Логвинов // Зоотехния. 1993. - № 1. - С.39-40. 5. Хомин С.П. Етіологія неплідності корів / С.П. Хомин // Науковий вісник Львівської державної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. – 2003. – Т.4., вип. 5. – С. 222 – 225. 6. Яблонський В.А. Більше уваги організації відтворення тварин / В.А. Яблонський, В.І. Любецький // Ветеринарна медицина України. – 2002. - № 5. – С. 32. 7. Харута Г.Г., Шарандак В.І. Регуляція половой функції у коров и телок / Г.Г. Харута, В.І. Шарандак / Методические рекомендации. - Белая Церковь, 1992 - 47 с.

Статья передана в печать 23.04.2015 г.

УДК 636.2.034:612.602

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОМАТОТРОПНОГО ГОРМОНА В ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ ДЛЯ СОЗРЕВАНИЯ ООЦИТОВ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РАННИХ ЗАРОДЫШЕЙ IN VITRO

Симоненко В.П., Ганджа А.И., Леткевич Л.Л., Кириллова И.В., Курак О.П.,
Журина Н.В., Ковальчук М.А.

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству»,
г. Жодино, Республика Беларусь

Усовершенствованный состав питательных сред для созревания ооцитов и культивирования ранних зародышей с использованием соматотропного гормона обеспечивает повышение уровня созревания яйцеклеток до стадии метафаза II до 89,2-91,8%, при этом уровень дробления составляет 55,4-57,6%, а выход эмбрионов, пригодных к пересадке, - 25,7-27,1%.

The advanced structure of nutrient mediums for maturing of oocytes and cultivation of early germs with use of a somatotropy hormone, provides increase of level of maturing of ova to a stage a metaphase II to 89,2-91,8%, thus level of crushing makes 55,4-57,6%, and an exit of the embryos suitable for change of 25,7-27,1%.

Ключевые слова: ооциты, питательные среды, *in vitro*, соматотропный гормон.

Keywords: oocytes, culture medium, *in vitro*, somatotropic hormone.

Введение. Многие страны мира стремятся к достижению лидерства в области биотехнологии и это является главным и приоритетным заданием их экономической политики. Биотехнология в животноводстве использует биологические процессы для получения необходимых продуктов и особой определенного генотипа нетрадиционными способами.

Одним из нерешенных вопросов в настоящее время является состав питательных сред для культивирования гамет и эмбрионов крупного рогатого скота в системе *in vitro*.

Фолликуло- и оогенез – строго координированный процесс взаимодействия гипофизарных и стероидных гормонов, обеспечивающий нормальное созревание яйцеклетки в окружении фолликулярных элементов. Если механизм и характер действия гонадотропных гормонов (ФСГ и ЛГ) достаточно хорошо известен, то процесс вовлечения в сложную систему гормональной регуляции такого гормона, как соматотропин (СТГ), изучен недостаточно. Выявлены *in vitro* многочисленные эффекты СТГ, ИФР и инсулина на стероидогенез, пролиферацию и жизнеспособность клеток овариальных фолликулов коров и наличие у последних специфических рецепторов к этим гормонам. Кроме того, у животных с повышенной концентрацией в крови СТГ, сопряженной с резистентностью клеток печени к стимулирующему воздействию этого гормона на синтез ИФР I, наблюдается повышение активности яичников, что свидетельствует о самостоятельной роли СТГ в регуляции фолликулогенеза коров.

После извлечения клеток из организма и помещения их в искусственные условия культуральная среда должна обеспечивать все внешние условия, которые клетки имели *in vivo*. Это обеспечивает выживание клеток, их пролиферацию и дифференцировку. Внеклеточная среда должна обеспечивать клетки питательными и гормональными факторами, т.е. обладать всем необходимым для роста и выживания клеток. Клетки животных предъявляют определенные требования к жидкой (питательная среда) и газообразной (концентрация газов) фазе. Успех в культивировании биообъектов зависит от правильного выбора питательной среды и тщательности её приготовления. Питательная среда представляет собой раствор определенного состава, к которому добавляются компоненты биологического происхождения (добавки плазмы, сыворотки крови, тканевые экстракты и т.д.).

Созревание фолликулов и ооцитов в яичниках млекопитающих находится под контролем многочисленных факторов, поступающих из кровеносной системы или синтезируемых локально. Как известно, гонадотропные гормоны являются главными регуляторами овариальной функции. В последние годы было установлено, что два других гормона гипофиза – пролактин и соматотропин (СТГ) – также участвуют в регуляции роста и развития овариальных фолликулов [1]. Кроме того, ряд имеющихся данных свидетельствует о влиянии этих гормонов на оогенез у различных видов млекопитающих. В частности, было установлено, что у мышей с инактивированным геном для лактогенного или соматотропного рецептора нарушается или ослабляется репродуктивная функция, в том числе нормальный процесс созревания ооцитов [2]. У женщин с пониженным содержанием СТГ в крови и фолликулярной жидкости наблюдалось снижение оплодотворяемости и качества ооцитов, а также жизнеспособности полученных *in vitro* эмбрионов [3]. Обработка овец СТГ во время супероуляции привела к повышению оплодотворяемости яйцеклеток *in vivo* и последующего качества эмбрионов [4]. При этом у различных видов млекопитающих в ооцитах и окружающих их кумулюсных клетках обнаружено наличие соматотропных и лактогенных рецепторов или их мРНК [5].

Но хотя сам метод существует уже довольно давно, потребности культивируемых клеток и оптимальные условия для их развития *in vitro* окончательно не определены. Поэтому актуальным остаются поиск и создание определенных питательных сред для культивирования клеток крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований Исследования выполнены в лаборатории молекулярной биотехнологии и ДНК-тестирования РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству».

Яичники получали на Минском, Борисовском мясокомбинатах и убойном цехе ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области после убоя животного путем отсекания от матки с помощью ножниц. Доставляли материал в лабораторию в стерильном солевом растворе Хенкса с добавлением 200 ед./мл пенициллина и 100 ед./мл стрептомицина в бытовом термосе. Перед извлечением яйцеклеток из яичников их дважды промывали раствором Хенкса с добавлением антибиотиков. Извлечение ооцитов проводили путем рассечения ткани яичников лезвием безопасной бритвы в растворе Хенкса в чашке Петри с добавлением 10 ед./мл гентамицина, 1 ед./мл гепарина и 1% инактивированной фетальной сыворотки. После выделения ооцитов их поиск и морфологическую оценку качества полученных ооцит-кумулясных комплексов осуществляли по разработанной нами 5-балльной шкале под бинокулярным микроскопом МБС-10 при 16- и 56- кратном увеличении.

Ооцит-кумулясные комплексы помещали в лунки планшета со средой для созревания на основе ТС-199 [Sigma] с добавлением соматотропина в дозах 5 нг/мл (I группа), 10 нг/мл (II группа) и 15 нг/мл (III группа) в CO₂-инкубатор на 24 часа. В качестве контроля использовали среду ТС-199 с добавлением 15% фетальной сыворотки телянок (IV и VIII группы). Часть созревших ооцитов через 8, 16 и 24 часа очищали от клеток кумулюса с помощью микропипетки в 0,25% растворе трипсина (2,5 мг трипсина на 1 мл физиологического раствора (0,9 г хлорида натрия на 100 мл бидистиллированной воды)). Затем помещали очищенные ооциты на обезжиренное предметное стекло в 1% раствор цитрата натрия (100 мг цитрата натрия на 9,9 мл бидистиллированной воды) на 5-10 минут. После этого с помощью микропипетки убрали излишки цитрата натрия, выстраивали в ряд и наносили охлажденный до 4-5°C фиксатор (3 мл метанола + 1 мл ледяной уксусной кислоты), высушивали на воздухе и добавляли краску. Через 15 минут готовые препараты помещали для промывки под проточную воду. Оставшуюся часть созревших ооцитов оплодотворяли, замороженно-оттаянной спермой, которую помещали в пробирку с 1 мл питательной среды и оставляли в термостате на 1 час. В качестве питательных сред для капсацикации использовали разработанную нами питательную среду на основе Тироды [Sigma]. Надосадочную жидкость удаляли, помещали в другую пробирку, добавляли 1 мл среды

для капситаии и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Верхний слой жидкости удаляли, осадок дважды отмывали средой для капситаии методом центрифугирования при 3000 об/мин, причем при втором отмывании в среду добавляли гепарин. Затем сперму отмывали дважды в среде для оплодотворения и в количестве 1×10^6 сперматозоидов в 1 мл добавляли к ооцитам, находящимся к этому времени в этой же среде. Помещали в CO_2 -инкубатор на 18 часов для оплодотворения.

После процесса оплодотворения оплодотворенные ооцит-кумулюсные комплексы отмывали от среды для оплодотворения и помещали в среду для культивирования ранних зародышей, куда вводили соматотропный гормон в следующих режимах:

- 10 нг/мл СТГ добавляли в среду для культивирования ранних зародышей после оплодотворения (V группа);
- 10 нг/мл СТГ добавляли в среду для культивирования ранних зародышей на 8-16 клеточной стадии развития (VI группа);
- 5 нг/мл СТГ добавляли в среду для культивирования ранних зародышей после оплодотворения и 5 нг/мл на 8-16 клеточной стадии развития (VII группа).

Эффективность созревания и оплодотворения ооцит-кумулюсных комплексов определяли по количеству и качеству созревших ооцитов, уровню дробления и выходу морул-бластоцист.

Анализ полученных цитогенетических препаратов проводили под бинокулярным микроскопом «Jenaval» при 900-кратном увеличении.

Результаты исследований. Известно, что гормон роста необходим для роста и развития организма, он также вовлекается в процесс половой дифференциации и полового созревания, в частности, в процессы стероидогенеза гонад, гаметогенеза и овуляции. Так, у коров гормон роста увеличивает число малых фолликулов, в позднем фолликулогенезе стимулирует стадии фолликулогенеза и предотвращает атрезию больших фолликулов. Таким образом, показано, что соматотропин играет важную роль в фолликулярной секреции, в механизмах образования доминантного фолликула, созревании в нем биологически полноценной яйцеклетки.

В связи с этим на начальном этапе исследований нами были рассмотрены дозы внесения соматотропного гормона в среду для созревания ооцитов.

В результате проведенных исследований установлено (таблица 1), что добавление в среду для культивирования ооцитов соматотропного гормона привело к увеличению в сравнении с контролем созревших до стадии метафаза II яйцеклеток на 5,7-8,0%. Аналогичная зависимость наблюдалась и в развитии клеток после оплодотворения. Уровень дробления вырос по сравнению с контролем на 9,9-13,8% и составил 53,7% при введении в культуральную среду 5 нг/мл соматотропина, 54,3% при концентрации соматотропина 15 нг/мл и 57,6% при введении 10 нг/мл. Из 95 клеток, поставленных на созревание, при использовании 5нг/мл СТГ 23 (24,2%) достигли стадии морула-бластоциста ($p < 0,01$). При увеличении дозы соматотропина до 15нг/мл выход жизнеспособных эмбрионов составил 25,7% ($p < 0,01$). Введение соматотропина в дозе 10нг/мл позволило получить 23 преимплантационных эмбриона ($p < 0,001$), что составило 27,1% от количества ооцитов, поставленных на культивирование.

Таблица 1 – Созревание ооцитов и выход преимплантационных эмбрионов под влиянием соматотропина

Группа	Среда для созревания ооцитов	Поставлено на культивирование, n	Созрело до метафазы II, n-%	Уровень дробления, n-%	Выход Мо-ВІ, n-%
I	ТС-199 + 5 нг/мл СТГ	95	85-89,5	51-53,7	23-24,2**
II	ТС-199 + 10 нг/мл СТГ	85	78-91,8	49-57,6	23-27,1***
III	ТС-199 + 15 нг/мл СТГ	70	64-91,4	38-54,3	18-25,7**
IV	ТС-199 (контроль)	80	67-83,8	35-43,8	11-13,8

Этот показатель превышает аналогичный в контроле на 13,3%, в группе с 5 нг/мл СТГ на 2,9% и в группе с 15 нг/мл СТГ на 1,4%. Наши данные подтверждают тот факт, что эффект рекомбинантного бычьего соматотропного гормона на мейоз ооцитов коров носит дозозависимый характер.

Таким образом, использование среды для созревания ооцитов с добавлением соматотропного гормона в оптимальной дозе 10нг/мл позволяет повысить уровень созревания яйцеклеток до стадии метафаза II до 91,8%, при этом уровень дробления составляет 57,6%, а выход эмбрионов, пригодных к пересадке, не менее 27,1%.

Проведенный цитогенетический анализ стадий мейоза (таблица 2) свидетельствует о том, что ооциты обладают неодинаковым потенциалом к дальнейшему развитию. Так, после 8-ми часового культивирования в I-III опытных группах на стадии мейоза метафаза II находилось 4,3, 1,6, и 4,5% ооцитов соответственно, при этом уровень дегенерированных ооцитов составлял 10,6, 6,4 и 11,4%. На других стадиях развития находилось от 84,1% в III группе, до 92,1% во II группе культивируемых ооцитов.

Наиболее высокая интенсивность созревания через последующие 8 часов наблюдалась в III группе и составляла 11,4%, а наиболее низкая в I группе – 4,2%. В контроле этот показатель находился на уровне 5,6%. В I группе также возросло количество дегенерированных ооцитов и составило 17,0%, что на 6,4% больше по отношению к 8-ми часовому культивированию. Самая высокая динамика развития отмечена в промежутке культивирования ооцитов от 16-до 24 часов. Так, до стадии метафаза II во второй группе развилось 71,4% ооцитов, что составило 63,5% роста по отношению к 16-часовому контролю. Интенсивность созревания в I и III группах находилась практически на одном уровне и составляла 34,1 и 38,6% соответственно. В контрольной группе этот показатель составлял 55,5%.

Таким образом, наибольшей потенцией к инициации мейоза обладают ооциты, в среду для культивирования которых было включено 10 нг/мл соматотропного гормона. Стадии метафаза II через 8, 16 и

24 часа достигли 1,6, 7,9 и 71,4% клеток соответственно. При этом количество дегенерированных ооцитов через 24 часа культивирования находилось на уровне 7,9%.

Таблица 2 – Цитогенетический анализ созревания ооцитов

Группа	Среда для созревания ооцитов	Поставлено на культивирование, n	Время культивирования, ч	Стадия развития, n-%		Дегенерированные, n-%
				метафаза II	другие стадии	
I	ТС-199 + 5 нг/мл СТГ	47	8	2-4,3	40-85,1	5-10,6
			16	4-8,5	35-74,5	8-17,0
			24	20-42,6	15-31,9	12-25,5
II	ТС-199 + 10 нг/мл СТГ	63	8	1-1,6	58-92,1	4-6,4
			16	5-7,9	54-85,7	4-6,4
			24	45-71,4	13-20,6	5-7,9
III	ТС-199 + 15 нг/мл СТГ	44	8	2-4,5	37-84,1	5-11,4
			16	7-15,9	31-70,5	6-13,6
			24	24-54,5	12-27,3	8-18,2
IV	ТС-199 (контроль)	54	8	2-3,7	46-85,2	6-11,1
			16	5-9,3	44-81,5	5-9,3
			24	35-64,8	14-25,9	5-9,3

На следующем этапе исследований нами был рассмотрен вопрос о целесообразности введения соматотропного гормона в среду для культивирования ранних зародышей. Без создания оптимальных условий культивирования ранних зародышей их развитие блокируется на стадии 8-16 кл., после чего наступает их дегенерация и гибель. Блок является природным видовым фактором. Возможно, что его наличие обусловлено генетическими особенностями яйцеклетки и определяется активностью материнских генов еще в овогенезе. Возможно, это связано с запасом РНК, различной активностью ряда ферментов, структурой и особенностями функций митохондрий, и различиями в проницаемости плазматической мембраны, обеспечивающих развитие эмбриона до более поздних стадий. Остановка в развитии при культивировании *in vitro* может быть также обусловлена неадекватностью условий для ооцитов в культуральной среде.

По результатам исследований установлено (таблица 3), что добавление в среду для культивирования соматотропного гормона в концентрации 10 нг/мл сразу после оплодотворения позволило получить 48,2% дробящихся зародышей. При двукратном добавлении СТГ по 5 нг/мл после оплодотворения и на 8-16 клеточной стадии развития эмбрионов уровень дробления составил 47,1%. Введение соматотропина только на стадии дробления 8-16 клеток в концентрации 10 нг/мл привело к получению 46,1% дробящихся зародышей, что на 1,0% меньше, чем при двукратном добавлении и на 2,1% меньше, чем при добавлении после оплодотворения, но на 2,9% больше контроля. По выходу жизнеспособных эмбрионов на стадии дробления морула-бластоциста наблюдалась аналогичная картина. Так этот показатель при использовании СТГ после оплодотворения составил 19,3%, что на 3,1% превышает контроль.

Использование соматотропина в 2 этапа позволило получить 18,4% морул-бластоцист, что на 2,2% больше контрольного показателя. Выход жизнеспособных эмбрионов на стадии морула-бластоциста при введении соматотропного гормона только на стадии блока 8-16 клеток находился практически на уровне контроля (+0,3%) и составил 16,5%. Таким образом, оптимальным режимом ввода соматотропного гормона в среду для культивирования ранних зародышей является введение его сразу после процесса оплодотворения. В результате чего выход жизнеспособных эмбрионов на стадии морула-бластоциста составляет 19,3%, а уровень дробления - 48,2%.

Таблица 3 – Влияние соматотропина на выход жизнеспособных зародышей

группа	Среда для культивирования ранних эмбрионов	Поставлено на культивирование, n	Уровень дробления, n-%	Выход Мо-ВІ, n-%
VI	ТС-199+10 нг/мл СТГ (после оплодотворения)	83	40-48,2	16-19,3
VI	ТС-199+10 нг/мл СТГ (на стадии 8-16 кл.)	91	42-46,1	15-16,5
VII	ТС-199 + 5 нг/мл СТГ (после оплодотворения) + 5 нг/мл СТГ (на стадии 8-16 кл.)	87	41-47,1	16-18,4
VIII	ТС-199 (контроль)	74	32-43,2	12-16,2

На заключительном этапе исследований нами был проведен сравнительный анализ режимов введения соматотропного гормона в среды для созревания ооцитов и культивирования ранних зародышей (таблица 4), при проведении которого были выявлены наилучшие результаты при добавлении соматотропина в среду для созревания ооцитов в концентрации 10 нг/мл. Так, до стадии метафаза II созрело 89,2% ооцит-кумулясных комплексов, что на 3,7% больше чем при концентрации 15 нг/мл, на 6,9% больше, чем при введении соматотропного гормона в концентрации 5 нг/мл и на 7,7% больше в сравнении с контролем.

Таблица 4 – Режимы введения соматотропного гормона в питательные среды

Показатели	Среда							
	для созревания ооцитов				для культивирования ранних зародышей			
	ТС-199 + 5 нг/мл СТГ	ТС-199 + 10 нг/мл СТГ	ТС-199 + 15 нг/мл СТГ	ТС-199 (контроль)	ТС-199 + 10 нг/мл СТГ (после оплод.)	ТС-199 + 10 нг/мл СТГ (на стадии 8-16 кл.)	ТС-199 + 5 нг/мл СТГ (после оплод.) + 5 нг/мл СТГ (на стадии 8-16 кл.)	ТС-199 (контроль)
I группа	II группа	III группа	IV группа	V группа	VI группа	VII группа	VIII группа	
Поставлено на культивирование, n	64	74	69	65	61	63	72	66
Созрело до метафазы II, n-%	52-82,3	66-89,2	59-85,5	53-81,5	48-78,7	52-82,5	57-79,2	54-81,8
Уровень дробления, n-%	33-51,6	41-55,4	37-53,6	29-44,6	32-52,4	29-46,0	37-51,4	29-43,9
Выход Мо-ВІ, n-%	13-20,3	19-25,7	16-23,2	11-16,9	13-21,3	10-15,9	15-20,8	9-13,6

Введение соматотропного гормона в концентрации 10 нг/мл в среду для созревания ооцитов показало также лучшие результаты в сравнении с введением соматотропина в среду для культивирования ранних зародышей. Так, уровень созревания до стадии метафаза II при введении соматотропина в концентрации 10 нг/мл сразу после оплодотворения в среду для культивирования ранних зародышей был на 10,5% ниже, чем при введении соматотропина в аналогичной концентрации в среду для созревания ооцитов и на 6,7%, 10,0% соответственно ниже при добавлении соматотропного гормона в концентрации 10 нг/мл на стадии дробления 8-16 клеток и в концентрации 5 нг/мл сразу после процесса оплодотворения и на стадии 8-16 клеточного дробления соответственно.

Аналогичная тенденция наблюдалась по уровню дробления и выходу преимплантационных эмбрионов. Так, уровень дробления во II группе превышал на 1,8% этот показатель в III группе, на 3,0% – в V группе, на 3,8% – в I группе, на 4,0% – в VII группе, на 9,4% – в VI группе и на 10,8% – в IV группе. Выход полноценных эмбрионов на стадии морула-бластоциста при введении соматотропного гормона в концентрации 10 нг/мл в среду для созревания ооцитов составил 25,7%. При использовании соматотропина в концентрации 15 нг/мл этот показатель составил 23,2% (-2,5%), при 5 нг/мл – 20,3% (-5,4%), в контроле – 16,9% (-8,8%). Выход жизнеспособных эмбрионов в V группе был ниже, чем во второй на 4,4%, в VI группе – на 9,8% и в VII группе – на 4,9%.

Таким образом, целесообразно использовать соматотропный гормон в концентрации 10 нг/мл для введения его в состав среды для культивирования ооцит-кумулясных комплексов. При использовании такого режима созревает до стадии метафаза II 89,2% ооцитов, выход жизнеспособных эмбрионов составляет 25,7% при уровне дробления 55,4%.

Заключение. 1. Использование среды для созревания ооцитов с добавлением соматотропного гормона в оптимальной дозе 10 нг/мл позволяет повысить уровень созревания яйцеклеток до стадии метафаза II до 89,2-91,8%, при этом уровень дробления составляет 55,4-57,6%, а выход эмбрионов, пригодных к пересадке, – 25,7-27,1%.

2. Наибольшей потенцией к инициации мейоза обладают ооциты, в среду для культивирования которых было включено 10 нг/мл соматотропного гормона. Стадии метафаза II через 8, 16 и 24 часа достигли 1,6, 7,9 и 71,4% клеток соответственно. При этом количество дегенерированных ооцитов через 24 часа культивирования находилось на уровне 7,9%.

3. Оптимальным режимом ввода соматотропного гормона в среду для культивирования ранних зародышей является введение его сразу после процесса оплодотворения. В результате чего выход жизнеспособных эмбрионов на стадии морула-бластоциста составляет 19,3%, при уровне дробления 48,2%.

Литература 1. Hull K.L., Harvey S. Growth hormone: roles in female reproduction. *J. Endocrinol.*, 2001. vol. 168. p. 1-23. 2. Bartke A. Role of growth hormone and prolactin in the control of reproduction. *What are we learning from transgenic and knock-out animals? Steroids.*, 1999. 64. p. 598-604. 3. Mendes M.C., Ferriani R.A., Sala M.M., Moura M.D., Carrara H.H., de Sa M.F. Effect of transitory hyperprolactinemia on in vitro fertilization of human oocytes. *J. Reprod. Med.* 2001. vol. 46. p. 444-450. 4. Folch J., Ramon J.P., Cocero M.J., Alabart J.L., Beckers J.F. Exogenous growth hormone improves the number of transferable embryos in superovulated ewes. *Theriogenology.* 2001. vol. 55. p. 1777-1785. 5. Picazo R.A., Garcia Ruiz J.P., Saniago Moreno J., Munoz J., Silvan G., Lorenzo P.L., Illera J.C. Cellular localization and changes in expression of prolactin receptor isoform in sheep ovary throughout the estrous cycle. *Reproduction.* 2004. vol. 128. p. 545-553.

Статья передана в печать 14.04.2015 г.

МОРФОЛОГИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ**Федотов Д.Н.**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

В статье представлены данные по особенностям морфологии щитовидной железы у новорожденных телят. Установлено, что у новорожденных телят наблюдается фолликулярно-коллоидный тип строения щитовидной железы с участками десквамации эпителия.

The article presents data on the morphology of the thyroid gland in newborn calves. Found that newborn calves observed follicular-colloid type structure with areas of desquamation the epithelium of thyroid.

Ключевые слова: морфология, щитовидная железа, новорожденный, телята.

Keywords: morphology, thyroid gland, newborn, calves.

Введение. Изучением щитовидной железы крупного рогатого скота занимались многие ученые, но научной литературы, посвященной анатомии и гистологии данного органа в морфометрической динамике у крупного рогатого скота черно-пестрой породы в возрастном аспекте в условиях технологического содержания скотоводческих комплексов Республики Беларусь, мы не обнаружили. Поэтому с целью важного вклада в углубление и расширение научных знаний сравнительной, возрастной, видовой и породной морфологии и прикладной ветеринарной эндокринологии, необходима детализация всех онтогенетических специфик морфофизиологических процессов адаптации, развивающихся в организме крупного рогатого скота под воздействием экологических факторов и технологий содержания в конкретных условиях обитания.

Учитывая также, что изучение морфофункциональной характеристики щитовидной железы у крупного рогатого скота в постнатальном онтогенезе – это одна из актуальных проблем современной морфологии, ибо знание этих закономерностей лежит в основе научной организации кормления, выращивания, проведения лечебно-профилактических мероприятий.

Цель исследований – определить анатомо-топографическое расположение, морфометрические параметры и гистологическую организацию щитовидной железы у новорожденных телят.

Материалы и методы исследования. Материал для исследования отбирался от новорожденных телят черно-пестрой породы, содержащихся в условиях животноводческих комплексов. Для морфологических исследований от животных отбирали щитовидные железы. Линейные размеры желез измеряли с помощью штангенциркуля «ШЦЦ ЕРМАК» с цифровым отсчетным устройством (значение отсчета по нониусу – 0,01 мм, класс точности – 1), абсолютную массу измеряли на электронных портативных весах Scout Pro модели SP402, производства фирмы OHAUS с дискретностью 0,01 г.

Макрофотографирование исследуемых эндокринных желез проводили при помощи цифрового фотоаппарата Lumix, производства Panasonic, модели DMC – FX12 (с функцией для макроскопического или анатомического фото).

Для гистологических исследований вырезали кусочек из центра железы и фиксировали в нейтральном 10% растворе формалина и жидкости Бродского. Морфологический материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин. Изготавливали гистологические срезы толщиной 3 – 5 мкм на санном MC-2 микротоме и окрашивали гематоксилин-эозином.

Абсолютные измерения структурных компонентов щитовидной железы осуществляли при помощи светового микроскопа «Olympus» модели BX-41 с цифровой фотокамерой системы «Altra₂₀» и спектрометра HR 800 с использованием программы «Cell[^]A» и проводили фотографирование цветных изображений (разрешением 1400 на 900 пикселей). Дополнительно на цифровом микроскопе Celestron с LCD-экраном PentaView, модели #44348 проводили фотографирование, с последующим анализом цветных изображений (разрешением 1920 на 1080 пикселей).

На гамма-счетчике «WIZARD – 1470 automatic gamma counter» стандартизированными методами радиоиммунологического анализа в плазме крови телят выявляли содержание тироксина (набором реагентов РИА-Т₄-СТ) и трийодтиронина (набором РИА-Т₃-СТ).

Все цифровые данные, полученные при проведении морфологических исследований, были обработаны с помощью компьютерного программного профессионального статистического пакета «IBM SPSS Statistics 21».

Результаты исследований. В ходе исследований нами установлено, что щитовидная железа новорожденных телят располагается в области шеи, краниально и по бокам трахеи и гортани. Железа прилегает к сосудисто-нервному пучку (общей сонной артерии, внутренней яремной вене, блуждающему нерву) в месте перехода ее вентральной поверхности в дорсальную. У щитовидной железы две доли и перешеек, прикрывающий вентрально второе – третье хрящевое кольцо трахеи у новорожденных телят. Краниальные концы обеих долей на небольшом протяжении соприкасаются с гортанью (со щитовидным и кольцевидным хрящами). Каудальные концы долей железы достигают четвертого кольца трахеи. Дорсальной поверхностью правая и левая доли плотно прилегают к трахее и слегка к пищеводу. Кровоснабжение железы осуществляется правой и левой краниальными щитовидными артериями – ветвями наружной сонной артерии, каудальными правой и левой щитовидными артериями – ветвями из подключичной артерии. В 50% случаев к долям железы подходит средняя щитовидная артерия из плечевого ствола. Краниальные вены отводят кровь в яремные вены, а каудальные – в плечевого ствола вены. У телят щитовидная железа покрыта кожей, подкожной

клетчаткой, грудино-подъязычной и грудино-щитовидной мышцами, и висцеральным листком внутренней фасции шеи, образующим капсулу органа, сращенную с гортанью и трахеей.

Форма правой и левой доли щитовидной железы в виде неправильного треугольника, а весь орган имеет вид двуплостного массивного образования с перешейком. Орган упругой консистенции, красного цвета с розовым оттенком. Поверхность разреза долей сочная и блестящая, рисунок дольчатого строения хорошо выражен.

У новорожденных телят масса всего органа составляет $8,19 \pm 0,01$ г. Масса левой доли составляет $3,85 \pm 0,01$ г, правой – $3,75 \pm 0,01$ г, перешейка – $0,55 \pm 0,07$ г. Длина левой доли равна $2,30 \pm 0,14$ см, ширина – $1,95 \pm 0,07$ см, толщина – $0,25 \pm 0,07$ см. Длина правой доли составляет $0,33 \pm 0,04$ см, ширина – $3,50 \pm 0,42$ см, толщина – $0,20 \pm 0,07$ см. Вся ширина щитовидной железы (доли с перешейком) у новорожденных телят равна $7,20 \pm 0,72$ см. Полученные цифровые данные указывают на превалирование параметров левой доли над правой долей щитовидной железы у новорожденных телят.



Рисунок 1 – Топография щитовидной железы новорожденного теленка

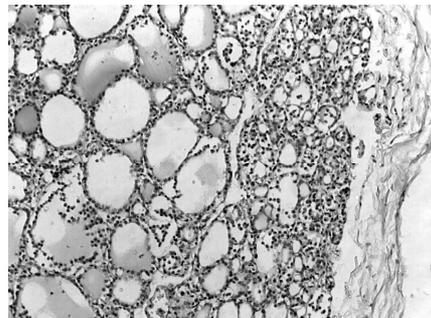


Рисунок 2 – Микроструктура щитовидной железы новорожденного теленка (окраска гематоксилин-эозином, $\times 100$)

У новорожденных телят с поверхности щитовидная железа окружена хорошо выраженной капсулой, состоящей из волокон и небольшого количества клеток соединительной ткани. Толщина капсулы составляет $33,27 \pm 1,67$ мкм. В соединительнотканых прослойках, проходящих внутри железы, видны некрупные кровеносные сосуды, а между фолликулами – единичные капилляры. Отходящие от капсулы прослойки рыхлой соединительной ткани, толщиной $19,06 \pm 0,40$ мкм, делят железу на дольки, и у новорожденных телят она имеет четко выраженный дольчатый характер строения.

Под капсулой располагаются мелкие фолликулы, а также участки паренхимы, лишённые фолликулярной организации – «подушечки Сандерсона», которые служат резервом развития новых фолликулов. Островки интерфолликулярного эпителия или «подушечки Сандерсона» – это сборная солидная группа клеток, формирующая компактные и трабекулярные комплексы фолликулярных клеток, не синтезирующих коллоид, которая встречается не только на периферии – под капсулой, но и в центральной части железы. Однако в центральной части встречаются псевдоостровки интерфолликулярного эпителия – тангенциальные срезы фолликулярного эпителия. В центре располагаются средние и крупные фолликулы, между которыми встречаются мелкие фолликулы. Обращает на себя внимание и наличие большого количества фигур митозов, как в фолликулярном, так и в интерфолликулярном эпителии, но более выраженная митотическая активность наблюдается среди интерфолликулярных тироцитов в периферических участках железы (под капсулой). Следовательно, процесс новообразования фолликулов наблюдается только на периферии железы. Образующиеся аденомеры состоят из 3 – 7 тироцитов. Иногда в стенке одного фолликула формируется еще один аденомер – дочерний фолликул. Закономерностью является то, что чем дальше фолликулы локализованы от капсулы, тем больше они сформированы. Толщина интерфолликулярных островков составляет $22,26 \pm 0,82$ мкм.

В щитовидных железах новорожденных телят не зарегистрировано изменение кровообращения в сосудах микроциркуляторного русла, но в ее отдельных участках выражены застои форменных элементов крови в капиллярах.

Фолликулы в щитовидной железе представлены преимущественно округлой и овальной формами. Они плотно прилегают друг к другу, а их полость заполнена полностью либо наполовину коллоидом. На периферии некоторых аденомеров располагаются многочисленные резорбционные вакуоли. Эти признаки свидетельствуют о начинающейся активизации секреторных процессов в железах или о переходе из состояния относительного физиологического покоя к началу функциональной деятельности железы. Но на многих срезах щитовидных желез присутствуют и крупные фолликулы, полость которых заполнена густым, плотным, гомогенным коллоидом и, как правило, не вакуолизированным.

Диаметр фолликулов у животных этого возраста колеблется не в широких пределах, средняя величина составляет $43,23 \pm 2,28$ мкм.

Тироциты в щитовидных железах новорожденных телят представлены преимущественно кубической формой (реже призматической), формируя стенку для каждого фолликула. Высота тироидного эпителия составляет $7,44 \pm 0,30$ мкм. Ядра тироцитов слегка вытянутой и шаровидной формы, расположены параллельно стенкам фолликулов. Большая их часть содержит эухроматин и до 3-х ядрышек, что указывает на активное участие тироцитов в процессах белкового синтеза. Цитоплазма железистых клеток светлая, ядра – базофильные. Объем ядра тироцита в железах новорожденных равен $67,86 \pm 0,47$ мкм³.

С-клетки щитовидной железы новорожденных телят занимают межфолликулярное положение. Располагаются одиночно (чаще на периферии органа). Их форма переменна – от грушевидной до

многогранной. Ядра овальной или эллипсовидной формы и содержат одно крупное эксцентрично расположенное ядрышко. Цитоплазма содержит мало гранул.

Подобная морфологическая характеристика паренхимы щитовидной железы новорожденных телят указывает на значительную секреторную функцию органа. Настоящая морфологическая констатация подтверждается и результатами определения гормонов – трийодтиронина составляет $2,24 \pm 0,40$ нмоль/л, а тироксина – $44,88 \pm 1,87$ нмоль/л. Одним из важнейших показателей, свидетельствующих о функциональном состоянии щитовидной железы, является индекс Брауна, который определяется отношением диаметра фолликулов к высоте тироцитов, причем его понижение указывает на повышение функциональной активности органных структур. Индекс у телят этого возраста составляет $5,69 \pm 0,41$ усл. ед. Таким образом, у новорожденных телят наблюдается переходный (смешанный) вариант структурной организации, который представляет сочетание фолликулярно-коллоидного строения с участками десквамации тиреоидного эпителия. Биологический смысл десквамации в переходе от обычного мерокринового типа секреции на «аварийный» голокриновый у новорожденных отражает усиленное функциональное напряжение железы, но десквамация фолликулярного эпителия не сопровождается гиперпродукцией гормонов щитовидной железы, а лишь удовлетворяет потребности организма в данных условиях. У новорожденных телят можно считать совершенным гистотипом для щитовидной железы – фолликулярно-коллоидный тип, обеспечивающий оптимальные условия для синтеза, транспорта и депонирования гормонов.

Заключение. В щитовидных железах новорожденных телят активность процессов фолликулогенеза проявляется в периферических областях (под капсулой). Наибольшее число фолликулов сосредоточено у телят этого возраста в центральных участках щитовидной железы. Структура щитовидной железы сформирована и дифференцирована, имеет переходный (смешанный) вариант строения – фолликулярно-коллоидный тип с участками десквамации тиреоидного эпителия. Паренхима при этом находится в состоянии нормальной секреции и характеризуется высоким уровнем пролиферативных процессов. Присутствует кубический, либо цилиндрический эпителий с крупными, центрально расположенными ядрами, коллоид пенистый, бледно-окрашенный (в части фолликулов вообще отсутствует).

Литература. 1. Ахмадалиев, Н. Микроструктура щитовидной железы и мясная продуктивность бычков (в Гиссарской долине Таджикистана): автореферат дисс. канд. биол. наук / Н. Ахмадалиев. – Душанбе, 1971. – 24 с. 2. Домнин, Б.Г. Морфологические изменения в щитовидной железе телят при близкородственном разведении / Б.Г. Домнин [и др.] // Морфология сельскохозяйственных животных. – Л., 1983. – С. 35 – 37. 3. Кучинский, М.П. Особенности соматического здоровья и тиреоидного статуса у молодняка крупного рогатого скота / М.П. Кучинский, Д.Н. Федотов, Г.М. Кучинская // Зоотехнічна наука: історія, проблеми, перспективи: Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції, 21 – 23 травня 2014 р., Подільськ; Подільський державний аграрно-технічний університет. – Кам'янець-Подільський: видавець ПП Зволейко Д.Г., 2014. – С. 304–305. 4. Федотов, Д.Н. Возрастная морфологическая характеристика и топография щитовидной железы у молодняка крупного рогатого скота черно-пестрой породы в условиях скотоводческих комплексов Республики Беларусь / Д.Н. Федотов, И.М. Луппова, А.И. Жуков // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2009. – Т. 45, вып. 2, ч. 1. – С. 192 – 195. 5. Федотов, Д.Н. Эндокринный статус и мясная продуктивность бычков, при использовании в рационе кипрея узколистного / Д.Н. Федотов // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». – 2013. – Т. 49, вып. 1, ч. 1. – С. 84–86. 6. Федотов, Д.Н. Морфофункциональные особенности структурной организации щитовидной железы старых коров в летний период пастбищного содержания / Д.Н. Федотов, И.М. Луппова // Аграрная наука – сельскому хозяйству: сборник статей. В 3 кн. / V Международная научно-практическая конференция, 17 – 18 марта 2010. – Барнаул: Изд-во АГАУ, 2010. – Кн. 3. – С. 248–249. 7. Федотов, Д.Н. Анатомическое строение щитовидной железы у новорожденных телят мясного направления продуктивности / Д.Н. Федотов // Исследования молодых ученых: материалы XII международной конференции молодых ученых «Наука и природа», г. Витебск, 31 мая 2013 г. – Витебск, 2013. – С. 138–140. 8. Федотов, Д.Н. Рекомендации по морфологическому исследованию щитовидной железы у животных / Д.Н. Федотов, И.М. Луппова // Утверждены Главным управлением ветеринарии с Государственной ветеринарной и Государственной продовольственной инспекциями Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь 15.06.2010 г., № 10-1-5/66. – Витебск, 2011. – 16 с. 9. Федотов, Д.Н. Морфологические и функциональные изменения щитовидной железы у бычков на откорме в норме и эксперименте / Д.Н. Федотов // Berkarar döwletimizň bagtyýarlyk döwründe weterinariýa işini kämilleşdirmegiň esasy ugurlary: Atly halkara ylmy maslahatynyň gysgaça beýany 2013-nji ýylyň 6 – 7-nji sentýabry. – Aşgabat: Türkmen döwlet neşirýat gullugy, 2013. – P. 193–195.

Статья передана в печать 23.04.2015 г.

УДК 636.2:611.018-002.44

КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ЛИГУРОЛ-ДЕРМА» ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЯЗВЕННЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОПЫТЕЦ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Ховайло Е.В.

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

Проведена морфологическая оценка влияния геля Лигурол-дерма на заживление язвенных поражений копытец крупного рогатого скота. Установлено, что данный препарат, обладая антисептическим действием, стимулирует и ускоряет регенерацию поврежденных тканей, уменьшает сроки выздоровления в среднем на 3,6 суток по сравнению с использованием порошка медного купороса.

A morphological assessment of the impact of gel Ligurool-derma on healing of ulcers of the hooves in cattle was performed. It has been established, that the active ingredient, which has antiseptic and stimulating properties, and also

accelerates the regeneration of damaged tissue, also reduces healing time by an average of 3.6 days when compared to copper sulfate powder.

Ключевые слова: язвы, венчик, свод межкопытцевой щели, мякиш копыта, морфология, заживление, гель, Лигурол-дерма.

Keywords: ulcers, coronal, the mercurial slit, digital cushion, hoofs, morphology, adhesion, gel, Ligurool-derma.

Введение. В последние годы число заболеваний копытцев у крупного рогатого скота неуклонно растет в связи с интенсификацией животноводства, строительством молочных комплексов и реконструкцией молочно-товарных ферм для концентрации большого поголовья на небольшой территории [2, 3, 4, 5]. Ортопедические болезни являются наиболее актуальной проблемой скотоводства, так как наносят значительный экономический ущерб хозяйствам за счет затрат на лечение, снижения продуктивности, выбраковки большого количества животных, при чем чаще высокопродуктивных. В литературе имеются данные, что 20-25% поголовья скота имеют ортопедические заболевания, а на комплексах с грубыми нарушениями содержания данная цифра может достигать 50% [1, 3]. Количество язвенных патологий (язва мякиша (ЯМ), язва венчика (ЯВ), язва свода межкопытцевой щели (ЯС)) составляет 71,8% от всех выявляемых патологий копытцев [3].

Для лечения язвы мякиша у крупного рогатого скота в ветеринарии применяется широкий спектр лекарственных форм и препаратов (линимент Вишневого, сложные порошки (перманганат калия с борной кислотой или порошком антибиотика), порошок медного купороса и др.). Многие из приведенных препаратов требуют длительного применения, не отвечают современным требованиям по экологической чистоте (кумуляция в молоке, предубойная выдержка, ограничения по использованию мяса и молока) и широте фармакологического действия. В связи с этим поиск эффективных средств, которые влияют на основные стадии и фазы воспалительного процесса, остается актуальным.

Лигурол-дерма – лечебный препарат, представляющий собой гелеобразную однородную массу светлоранжевого цвета. В геле содержится хлоргексидин биглюконат, β -каротин, пленкообразователь. Компоненты данного препарата обеспечивают противовоспалительное действие, стимулируют местное кровообращение, регенерацию эпидермиса, ускоряют процессы заживления. Гель хорошо удерживается на поверхности патологического очага, образуя пленку.

Хлоргексидин биглюконат является местным антисептиком, с преимущественно бактерицидным действием. Механизм защитного действия каротина основывается на дезактивации высокорективных свободных радикалов кислорода, перекисей, ксенобиотиков, которые являются причиной целого ряда патологий.

Лигурол-дерма, кроме выраженного антисептического действия, также стимулирует и ускоряет регенерацию поврежденных тканей, не обладает кумулятивным действием. Молоко дойных животных, при лечении препаратом можно использовать без каких-либо ограничений. При вынужденном убое животных в период лечения гелем Лигурол-дерма их мясо так же используют без ограничений.

Целью данной работы явилась морфологическая оценка динамики заживления язвенных поражений (язвы мякиша, венчика, свода межкопытцевой щели) копытцев коров под влиянием геля Лигурол-дерма.

Материалы и методы исследований. Работа проводилась в условиях хозяйства с беспривязно-боксовым содержанием коров.

Лабораторные исследования проводились в НИИ ПВМ и Б УО ВГАВМ, лаборатории световой и электронной микроскопии, лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии.

Для изучения действия препарата Лигурол-дерма на морфологию заживления язвенных поражений копытцев (язвы мякиша (ЯМ), венчика (ЯВ), свода межкопытцевой щели (ЯС)) у крупного рогатого скота были сформированы две группы по 10 животных в каждой (порода, возраст, живая масса, удой, период лактации были одинаковые): группа 1 (опытная) и группа 2 (контрольная). При первичной обработке язвенного очага в обеих группах проводили механическую очистку копытец от загрязнений, расчистку копытец, химическую антисептику (3% раствором перекиси водорода) и хирургическую обработку язвенной поверхности (удаление некротизированных тканей, патологических грануляций, истончение рога по краям язвенного дефекта). Для лечения коров опытной группы применяли гель Лигурол-дерма. В контрольной группе применяли порошок медного купороса. На пораженное копытец накладывали защитную бинтовую повязку. В обеих группах смена бинтовой повязки осуществлялась один раз в три дня до появления клинических (исчезновения хромоты, опирание на конечность в покое) и морфологических (закрытие язвенного дефекта эпителиальной тканью) признаков выздоровления.

С целью изучения морфологии заживления язвы мякиша отбирали биоптат на границе здорового и пораженного участков. Взятие материала для исследования проводили до лечения, на 6-й, 9-й, 12-й, 18-й дни лечения. Фиксацию проб тканей проводили в 10% растворе формалина. Гистологический метод исследования включал приготовление гистосрезов и их микроскопию. Гистосрезы готовили на криотоме фирмы Microm. Окрашивали препараты гематоксилин-эозином. Микроскопию приводили на микроскопе OLIMPUS BX 51. Обработку полученных изображений проводили с помощью программ ImageScope M и cellSens Standard. Оценку заживления проводили по макроскопическим (хромота, болезненность, отек, экссудация, изменение местной температуры язвенного очага, внешний вид грануляционной ткани, наличие и ширина эпителиального ободка на поверхности патологического очага) и микроскопическим (тяжесть альтеративных процессов учитывали по наличию отека, некротизированных участков и кровоизлияний в области язвенного поражения; процессы регенерации учитывали по интенсивности пролиферативных процессов, лимфоцитарно-макрофагальной реакции, уменьшению отека, интенсивности формирования грануляционной ткани) признакам. Измерение местной температуры язвенного очага проводили с использованием пирометра и сравнивали с температурой аналогичного участка на здоровой конечности.

Результаты исследований. До лечения у коров всех групп отмечали разной степени хромоту опорного типа. Макроскопически в области пальцевого мякиша наблюдали изъязвление тканей, истечение большого

количества экссудата, резко выраженный отек, болезненность. В области венчика – разрастание патологической грануляционной ткани в виде гроздьев, бородавок, изъязвление тканей, истечение большого количества экссудата, резко выраженный отек, болезненность. В области свода межкопытцевой щели – изъязвление тканей, истечение небольшого количества экссудата, выраженный отек, болезненность при пальпации. У всех коров отмечалось повышение местной температуры язвенного очага до 31,1-31,4°C – при ЯМ, 30,1-31,3°C – при ЯС, 24,3-24,8°C – при ЯВ. При этом в аналогичном непораженном участке мякши здорового копыта местная температура составляла 19,0-20,1°C, свода межкопытцевой щели – 19,0-20,7°C, венчика – 18,7-19,2°C.

Микроскопически до лечения в сетчатом слое дермы отмечался отек, распрямление, фрагментация коллагеновых волокон соединительной ткани (рисунок 1). В местах наибольшего воздействия этиологического фактора отмечались мелко- и крупноочаговые участки некроза соединительно-тканых волокон. В некоторых случаях некротические очаги были окружены демаркационным валом, состоящим из лимфоцитов и макрофагов, а в отдельных случаях некротизированные участки инфильтрировались макрофагами, лимфоцитами, фибробластами, что указывало на ответную реакцию организма. Позади демаркационного лимфоцитарно-макрофагального вала было отмечено большое количество фибробластов, фиброцитов и вновь образованных мелких сосудов, представляющих молодую грануляционную ткань. Таким образом, наряду с дистрофическими и некротическими изменениями, также шли и регенераторные процессы.

Патоморфологические изменения в соединительно-тканых волокнах нарушали архитектуру их трехмерного ячеистого расположения. Соединительная ткань теряла свои амортизационно-прочностные характеристики, что приводило к увеличению давления на стенки кровеносных сосудов, нарушалась циркуляция крови в сосудистом русле. В стенке кровеносных сосудов микроциркуляторного русла отмечено мукоидное набухание, что является признаком тканевой гипоксии (нарушения обмена кислорода и углекислого газа). Эндотелиальные клетки «вздыбленные», неплотно прилегают друг к другу, что значительно повышает проницаемость стенок. Как следствие, отмечаются обширные кровоизлияния в окружающие ткани. Нарушение гладкости интимы за счет расположения эндотелиальных клеток провоцирует агрегирование эритроцитов в просвете сосудов.

В сосочковом слое дермы наблюдаются деструкция и деформация сосочков. Основания изменённых сосочков инфильтрированы лимфоцитами и макрофагами.

Так как сосуды расположены только в дерме, то эпидермис, ввиду недостаточной трофики со стороны дермальной сосудистой сети и продолжающегося механического давления, воздействия химически агрессивных факторов (навоз, моча) с внешней стороны, также вовлекается в патологический процесс. Базальный слой эпидермиса по контуру деформированных сосочков дермы сохраняется небольшими фрагментами или даже может отсутствовать. В шиповатом слое эпидермиса отмечается вакуолизация клеток – интрацеллюлярный отек, что снижает опорную функцию этого слоя эпителия.

Значительные патоморфологические изменения нижележащих слоев эпидермиса влекут за собой нарушение формирования наружного (рогового) слоя копытца, который должен выполнять основную защитную и опорную функции в копытце. Было отмечено, что в зависимости от глубины поражения тканей роговой слой либо отсутствовал вовсе, либо, в случае регенерирующих тканей, был истонченным и разрыхленным.

В роге мякши вблизи патологического процесса наблюдалось расслоение межтрубчатого рога, увеличение расстояния между трубочками в ряду и рядами трубочек. Сами роговые трубочки характеризовались значительным истончением коры, разрушением и выкрашиванием ядра. Все перечисленные патоморфологические изменения значительно снижали качество копытцевого рога.

Таким образом, до лечения при язвенных патологиях преобладали альтеративные процессы, которые затрагивали все тканевые структуры копытца, приводя к тяжелым морфофункциональным нарушениям.

Наряду с альтеративными шли и пролиферативные процессы (чаще при ЯВ). В язвенном очаге отмечался рост грануляционной ткани. Но, поскольку действие этиологических факторов (механическое раздражение, микробная обсемененность и др.) не прекращалось, то и созревания грануляционной ткани, эпителизации язвенного очага не происходило. В таком случае процессы пролиферации принимают патологический характер, грануляционная ткань характеризуется избыточным ростом и в виде гроздьев, бородавчатых наростов покрывает язвенный очаг. Микроскопически в такой патологически разросшейся грануляционной ткани отмечалось отсутствие формирования и созревания волокон соединительной ткани, слабая васкуляризация, сильная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами, вторичные некротические очаги (рисунок 2).

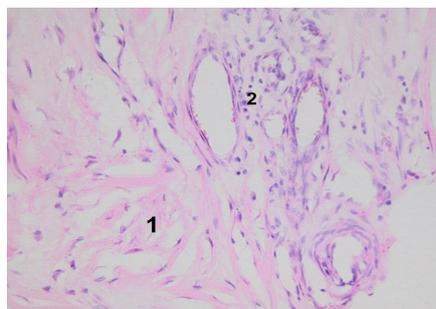


Рисунок 1 – Разволокнение, отек (1) волокон соединительной ткани. Инфильтрация лимфоцитами (2) соединительной ткани вокруг сосудов при ЯМ до лечения. Подопытная группа. Окраска гематоксилин-эозином. X-500

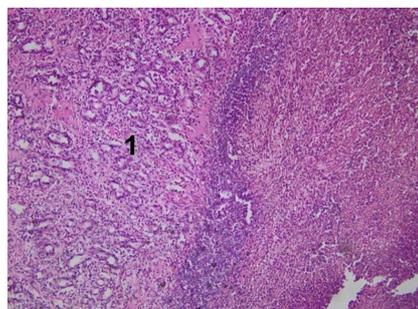


Рисунок 2 – Формирование патологической грануляционной ткани (1) при ЯВ у коров контрольной группы до лечения. Окраска гематоксилин-эозином. X-500

На 3-й день лечения у коров опытной группы отмечали хромоту средней степени. Болезненность, отек, экссудация были умеренно выражены. Местная температура патологического очага снизилась на 4-5 °С. Поверхность язвенного очага была покрыта тонкой пленкой препарата Лигурол-дерма. В контрольной группе хромота, болезненность, отек, экссудация были резко выражены, поверхность язвенного очага была мокнущая, ярко-красного цвета, местами покрыта влажной коркой порошка медного купороса. Местная температура ЯМ снизилась лишь на 1,3-2 °С. Микроскопические исследования не проводили.

На 6-й день лечения у коров опытной группы отмечали хромоту слабой степени, умеренно выраженную болезненность. Отек был слабо выражен, экссудации не отмечалось. Местная температура патологического очага была незначительно повышена на 3,2°С. Очаг язвенного поражения был полностью покрыт крупнозернистой грануляционной тканью розового цвета. По краю патологического очага наблюдался тонкий ободок эпителизации. Микроскопически отмечено появление множества тонкостенных кровеносных сосудов, васкуляризация в зоне некроза и вокруг нее, скопление большого количества фибробластов (рисунок 3). Данные изменения оценивались как затухание интенсивной воспалительной реакции и начало регенерации.

В контрольной группе коров на 6-й день опыта хромота, болезненность сохранились и были умеренно выражены. Отмечались слабо выраженные отек и экссудация. Местная температура патологического очага была умеренно повышена на 5,5-6°С. Отмечалось наличие в центре патологического очага крупнозернистой грануляционной ткани. Микроскопически отмечено скопление лимфоцитов вокруг пигментных пятен на месте кровоизлияний (рисунок 4). Кроме того, отмечено появление небольшого количества тонкостенных кровеносных сосудов и фибробластов. Эпителизации патологического очага не наблюдалось. Таким образом, регенеративные процессы были более выражены в подопытной группе коров при использовании геля Лигурол-дерма.

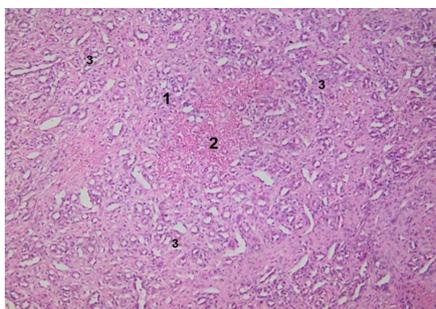


Рисунок 3 – Скопление лимфоцитов (1) вокруг очага некроза (2). Васкуляризация (3) зоны некроза при ЯМ на 6-й день лечения, в подопытной группе. Окраска гематоксилин-эозином. X-250

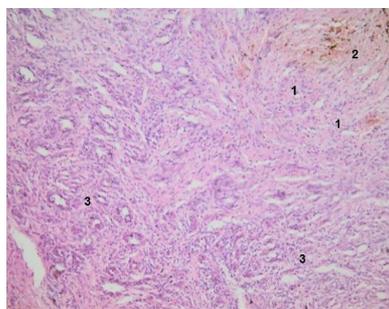


Рисунок 4 – Скопление лимфоцитов (1) вокруг пигментных пятен на месте кровоизлияний. Слабая васкуляризация грануляционной ткани при ЯМ на 6-й день лечения, в контрольной группе. Окраска гематоксилин-эозином. X-250

К 9-му дню лечения у коров опытной группы не отмечалось хромоты, болезненности, экссудации, отека, повышения местной температуры язвенной поверхности. Язвенный очаг был выполнен на уровне здоровых тканей мелкозернистой грануляционной тканью, в которой уменьшилось количество сосудов, но увеличился их диаметр. Отмечено начало формирования волокон соединительной ткани. Ширина эпителиального ободка составляла 3 мм.

На 9-й день лечения у коров контрольной группы отмечалось ослабление симптомов (слабо выраженная хромота и повышение местной температуры патологического очага на 3,9°С). Язвенный очаг был полностью заполнен крупнозернистой грануляционной тканью. Формирование волокон соединительной ткани шло плохо. Процессы эпителизации были вялотекущие. Эпителиальный ободок образовывался лишь местами, по краю раны.

К 12-му дню лечения у коров опытной группы в грануляционной ткани на месте патологического очага значительно увеличился диаметр сосудов, активно формировались волокна соединительной ткани (рисунок 5). На сформировавшихся сосочках наблюдались базальный и тонкий, частично ороговевающий, слой эпидермиса. По краю патологического очага хорошо выражена зона эпителизации (ширина 5-6 мм).

В контрольной группе после 12-ти дней лечения дефект тканей был не однородным на разных участках. В центре патологического очага грануляционная ткань была богата молодыми сосудами, а по периметру – наблюдались вялотекущие признаки образования волокон соединительной ткани (рисунок 6). Макроскопически отмечалась хромота слабой степени, отек и повышение местной температуры патологического очага на 2,7°С.

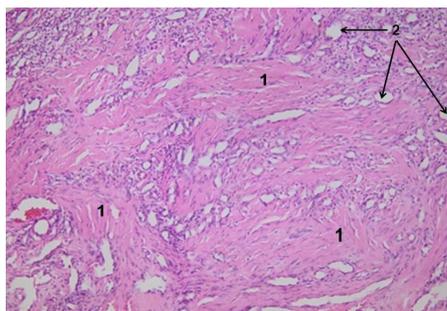


Рисунок 5 – Сформированные волокна соединительной ткани (1). Крупные сосуды (2) в грануляционной ткани на 12-й день лечения у коров опытной группы. Окраска гематоксилин-эозином. X-250

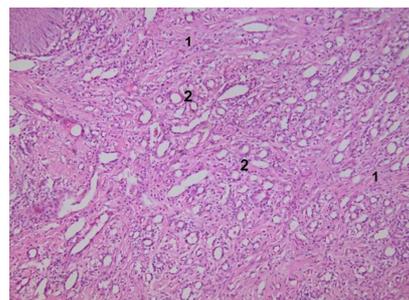


Рисунок 6 – Начало формирования волокон соединительной ткани. Увеличение количества сосудов на 12-й день лечения у коров контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозином. X-250

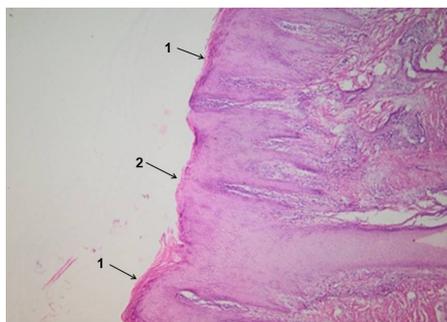


Рисунок 7 – Тонкий (1), фрагментированный (2) эпителиальный ободок, 16-й день лечения. Контрольная группа. Окраска гематоксилин-эозином. X-250

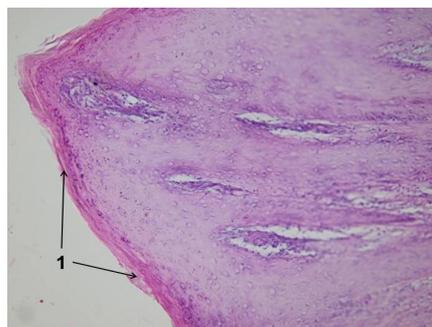


Рисунок 8 – Закрытие язвенного очага эпителием (1) на 16-й день лечения у коров опытной группы. Окраска гематоксилин-эозином. X-250

Отсутствие хромоты, болезненности, отека, повышения местной температуры патологического очага расценивали как клиническое выздоровление (13-й день в подопытной группе и 16-й – в контрольной). Хотя по морфологическим признакам процесс выздоровления не был завершен (полная эпителизация патологического очага отмечалась на 16,1±0,25 сутки в опытной группе и на 19,7±0,21 – в контрольной).

Заключение. Гель Лигурол-дерма обладает выраженным заживляющим действием. Выздоровление наступает на 3,6 суток быстрее, чем при применении порошка медного купороса, что позволяет рекомендовать препарат Лигурол-дерма для лечения крупного рогатого скота с язвенными поражениями (язвы мякиша, венчика, свода межкопытцевой щели) копытец у коров.

Литература. 1. Болезни рога – хлопот много / Э. Веремей [и др.] // Белорусское сельское хозяйство. – 2011. – №11. – С. 54-56. 2. Руколь, В. М., Профилактика болезней конечностей в условиях интенсификации молочного скотоводства / В. М. Руколь, К. В. Вандич, Т. А. Хованская // Наше сельское хозяйство. Ветеринария и животноводство. - 2014. - №2. - С. 24-28. 3. Ховайло, Е. В., Биохимические и морфологические показатели копытцевого рога у коров при стойлово-пастбищном содержании / Е. В. Ховайло, А. Л. Лях, В. А. Ховайло // Ученые записки : [сборник научных трудов] : научно-практический журнал / УО ВГАВМ. – Витебск, 2013. – Т. 49, вып. 1, ч. 1. – С. 87-90. 4. Ховайло, Е. В., Влияние двигательной активности на качество копытцевого рога коров / Е. В. Ховайло // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии / ФГБОУ ВПО «СПбГАВМ». – Санкт-Петербург, 2013. – С. 129-130.

Статья передана в печать 16.04.2015 г.

УДК 619:614.31:637.5

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА «ВИТАЗИМ» НА АНАТОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ТУШЕК ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Шульга Л.В., Лебедев С.Г., Юрашевич С.М.

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

Разработка новых эффективных способов повышения продуктивности цыплят-бройлеров в целях получения экологически чистых и безопасных продуктов птицеводства является в настоящее время актуальной задачей для всех птицеводческих хозяйств Республики Беларусь различных форм собственности. Данные, приведенные в статье по влиянию ферментного препарата «Витазим» при введении в комбикорм в различных дозировках, свидетельствуют о повышении качественных показателей мяса цыплят-бройлеров, а также способствуют повышению выхода мяса 1 сорта на 7,8 процентных пункта. Анатомическая разделка тушек цыплят свидетельствует об увеличении выхода таких частей, как грудка, бедро, голень, крыло и выхода жира-сырца.

The development of new effective methods of increasing the productivity of broiler chickens in order to provide clean and safe poultry products is currently a topical issue for all poultry farms of the Republic of Belarus of various forms of ownership. The information given in the article under the influence of the enzyme preparation "Vitazim", when administered in the feed at different dosages, reflects the improvement of quality indicators of meat broiler chickens, as well as help to increase meat yield grade 1 by 7.8 percentage points. Anatomical butchering carcasses of chickens shows the increase of the output of such parts, such as breast, thigh, drumstick, wing and output of crude fat.

Ключевые слова: цыплята-бройлеры, ферменты, качество тушек.

Keywords: broilers, enzymes, quality carcasses.

Введение. Стратегическими задачами сельского хозяйства Республики Беларусь являются обеспечение продовольственной безопасности страны и экспорт важнейших продуктов питания для приобретения энергоресурсов и других материально-технических средств, не производимых отечественными предприятиями. Республика располагает благоприятными природно-климатическими, географическими, экологическими условиями для развития животноводства и птицеводства.

Постановлением Совета Министров Республики была принята Программа развития птицеводства в Республике Беларусь на 2011–2015 гг. Программа разработана в целях обеспечения стабильного снабжения населения республики высококачественной птицеводческой продукцией и доведения среднедушевого потребления яиц и мяса птицы до уровня рекомендуемых норм рационального питания человека [3].

Птицеводческие предприятия производят свыше 110 наименований птицеводческой продукции, полностью обеспечивают потребности населения республики и часть своей продукции экспортируют в страны ближнего зарубежья.

Большие резервы увеличения производства продуктов животноводства таятся в повышении коэффициента полезного действия потребляемых животными кормов. Многие питательные вещества в кормах находятся в труднодоступной форме. Также известно, что молодняк животных рождается с недоразвитой ферментной системой пищеварения. Да и взрослые животные переваривают в лучшем случае 60–70 % питательных веществ корма, хотя пищеварительные железы животных вырабатывают достаточное количество пепсина, трипсина, амилазы, липаз и других пищеварительных ферментов. Повышение переваримости питательных веществ, хотя бы на несколько процентов, позволило бы получить значительное количество дополнительной продукции. Каким же образом повысить эффективность использования имеющихся кормов?

Одним из путей решения этой важной задачи является введение в рацион птицы ферментных препаратов. В нашей стране разрешены к применению в животноводстве целый ряд ферментных препаратов, содержащих амилолитические, протеолитические, пектинолитические, цитолитические и целлюлозолитические ферменты.

Ферменты (синоним энзимы) – это специфические белки, выполняющие в живом организме роль биологических катализаторов. Ферменты в отличие от гормонов и биостимуляторов действуют не на организм животных, а на компоненты корма в желудочно-кишечном тракте, они не накапливаются в организме и продуктах птицеводства. Расщепляя или синтезируя вещества, сами ферменты могут не изменяться.

В пищеварительном тракте птиц вырабатываются собственные ферменты, при помощи которых и происходит переваривание питательных веществ кормов. Однако у моногастричных животных и птиц практически нет собственных ферментов, переваривающих некрахмалистые полисахариды, из-за чего они практически не усваиваются организмом. Более того, некрахмалистые полисахариды препятствуют доступу собственных ферментов животных и птиц к другим питательным веществам и их перевариванию. В пищеварительном тракте птиц и животных некрахмалистые полисахариды образуют вязкий раствор, обволакивающий гранулы крахмала и протеинов. Возникают два отрицательных последствия: жидкий и клейкий помет, в котором распространяется инфекция и снижение продуктивности птиц и животных.

В птицеводстве в качестве основных концентрированных кормов используются ячмень, овес, рожь, непродуктивная пшеница и продукты их переработки. Потенциал этих кормов при кормлении животных с однокамерным желудком не в полной мере используется организмом. Основные зернофуражные культуры – овес и ячмень – отличаются высоким содержанием клетчатки (9–12 и 4–7 % соответственно). Если обрушить овес и ячмень, содержание клетчатки снижается до 2,5–3,5 % в ячмене, до 4–4,5 % - в овсе. При этом переваримость веществ этих кормов хотя и повышается, но проблема полностью не решается. Ведь рожь с количеством клетчатки в зерне всего 2,4–2,5 %, не является высокоценным кормом. Низкая питательность ряда зерновых обусловлена тем, что наряду с клетчаткой в них присутствуют в значительных количествах другие некрахмалистые полисахариды, к которым относятся бета-глюканы и пентозаны. Они содержатся в клеточных стенках эндосперма зерна и при лущении не устраняются.

По обобщенным данным, основными антипитательными факторами пшеницы, ржи и тритикале являются пентозаны, большую часть которых составляют арабиноксиланы. В ячмене отрицательное воздействие на усвоение питательных веществ в основном оказывают бета-глюканы [5].

Особенностью белорусской кормовой базы является возделывание таких культур, как ячмень, овес, рожь, тритикале, фуражная пшеница. Однако нехватка в Беларуси кукурузы и сои – главных источников энергии и протеина – вынуждает использовать традиционные для республики зерновые и зернобобовые культуры. Высокое содержание в этих культурах некрахмалистых и антипитательных полисахаридов и солей фитиновой кислоты, которые не перевариваются в желудочно-кишечном тракте птицы, приводит к снижению энергетической и питательной ценности кормов, нарушению пищеварения. В этих условиях включение ферментных препаратов различных спектров действия в комбикорма с пониженным уровнем обменной энергии интенсифицирует процессы гидролиза в желудочно-кишечном тракте, повышает доступность питательных веществ, улучшает их усвоение и способствует повышению продуктивности птицы.

В результате использование ферментов приводит к повышению усвояемости комбикормов, способствует повышению доступности фосфора и азота из растительных компонентов комбикорма. Использование ферментов оправдано экономически, так как их применение позволяет за счет использования более дешевого растительного сырья снизить стоимость кормов а, следовательно, и себестоимость производства. Благодаря использованию ферментных препаратов можно увеличить нормы ввода в комбикорма продуктов переработки масличных культур, отрубей, бобовых и зерновых культур (ячмень, просо, рожь) [4; 5].

Применение биологически активных веществ в качестве средства повышения продуктивности и естественных защитных сил организма сельскохозяйственных животных и птицы является актуальной задачей, особенно в условиях промышленной технологии [2; 7].

Знание биологических особенностей птицы при современных интенсивных промышленных технологиях производства мяса имеет решающее значение в повышении продуктивности. От уровня продуктивности зависит резистентность молодняка птиц, продолжительность выращивания, количество производственных циклов, средняя живая масса одной головы, реализуемой на мясо, конверсия корма и т.д.

Для производства мяса бройлеров при ресурсосберегающих технологических приемах выращивания используют цыплят высокопродуктивных кроссов мясных кур. Новые применяемые на производстве технологии должны способствовать повышению продуктивности и качества мяса цыплят-бройлеров. Однако,

ныне существующие технологии и технологические нормативы, организация полноценного кормления для цыплят-бройлеров нуждаются в дальнейшем совершенствовании с целью максимальной реализации генетически обусловленного потенциала по части продуктивности [6; 8].

Промышленная технология содержания цыплят-бройлеров и влияние различных техногенных нагрузок повышает требование к обеспеченности птицы биологически активными веществами и витаминами. Исходя из вышеперечисленного, можно сделать вывод, что разработка новых эффективных способов повышения продуктивности цыплят-бройлеров в целях получения экологически чистых и безопасных продуктов птицеводства является, в настоящее время, актуальной задачей для всех птицеводческих хозяйств Республики Беларусь различных форм собственности.

Цель работы – изучить влияние различных дозировок мультиэнзимного ферментного препарата «Витазим» на выход частей тушек и сортовой состав мяса цыплят-бройлеров.

Материал и методы исследований. Исследования проводились в условиях ОАО «Птицефабрика Городок», на производственном отделении «Хайсы». Объектом исследования явились цыплята-бройлеры кросса «Кобб-500» в течение всего технологического периода их выращивания. Птица находилась в одинаковых зоотехнических условиях. Содержали птицу контрольной и опытной групп в одном птичнике. Отопление птичника централизованное. Приточно-вытяжная вентиляция поддерживала необходимый микроклимат в помещении. Кормление осуществляли полнорационными комбикормами, сбалансированными по основным питательным элементам. Ферментный препарат вводился в комбикорм путем тщательного поступенчатого смешивания. Поение осуществлялось из nipple-поилок.

Ферментный препарат задавался опытным группа по следующей схеме: 1-я контрольная – ОР (основной рацион): КД-П-5 «Стартер» (1-20 день); КД-П-6Б «Гровер» (21-33 день); КД-П-6 «Финишер» (с 34 до убоя). 2-я опытная – ОР + 300 г ферментного препарата «Витазим», 3-я опытная – ОР + 500 г ферментного препарата «Витазим», 4-я опытная – ОР + 700 г ферментного препарата «Витазим» на тонну комбикорма.

Сухой мультиэнзимный ферментный препарат «Витазим» – содержит комплекс ферментов карбогидраз: ксиланазу (эндо- 1,4β- ксиланазу) (3600 ед/г), целлюлазу (эндо-1,4-целлюлазу) (3000 ед/г), бета-глюканизу (эндо-1,3-(4)-β-глюканизу) (7 000 ед/г).

«Витазим» участвует в разрушении клеточных стенок растений посредством ферментативного гидролиза гликозидных связей некрахмалистых полисахаридов – ксиланов, целлюлозы, глюканов. Ферментативный гидролиз приводит к образованию фрагментов меньшего молекулярного веса и снижению вязкости химуса в желудочно-кишечном тракте.

Результаты исследований. С целью изучения влияния мультиэнзимного ферментного препарата «Витазим» был проведен комплекс исследований тушек цыплят-бройлеров (5 контрольных и по 5 опытных), убитых в возрасте 41 день. Анатомическую разделку тушек из каждой группы проводили в соответствии с СТБ 1945-2010 «Мясо птицы. Общие технические условия».

В таблице 1 представлены результаты изучения сортности мяса у цыплят, получавших мультиэнзимный ферментный препарат «Витазим» в дозировках 300, 500 и 700 г/т комбикорма.

Таблица 1 – Сортность мяса цыплят-бройлеров, %

Группы	Первый сорт	Второй сорт	Нестандартное
1-я контрольная	75,1	19,7	5,2
2-я-опытная	80,3	16,1	3,6
3-я опытная	78,5	18,4	3,1
4-я опытная	83,9	13,3	2,8

Результаты убоя цыплят-бройлеров свидетельствуют о высоком качестве мяса и увеличении выхода тушек первого сорта в группах, которым вводили ферментный препарат «Витазим».

Так, у молодняка птиц 4-й группы, по сравнению с контролем, произошло наибольшее увеличение выхода тушек первого сорта на 7,8 п.п., во 2-й и 3-й группах - на 5,2 и 3,4 п.п. соответственно. Таким образом, вследствие улучшения качества мяса, возрастает выход тушек 1-го сорта и снижается выход мяса 2-го сорта и нестандартного.

Для определения выхода частей тушки цыплят-бройлеров мы проводили анатомическую разделку тушек птицы, их обвалку. Для разделки мяса птицы в цеху переработки имеется линия разделки. Под каждый режущий модуль установлена емкость для сбора разделанной части тушки. Модули настраиваются в зависимости от необходимости произвести отделение разных частей тушки. Однако, большой недостаток разделочных машин заключается в том, что после обвалки приходится проводить дополнительную дообвалку мяса, так как на мясе остаются части костей, хрящей и кожи.

Различные части одной и той же тушки не одинаковы по пищевой, энергетической, биологической ценности и кулинарному предназначению. Отдельные части тушек отличаются по содержанию в нем мяса, жира и костей, по соотношению полноценных и неполноценных белков, влаги, жира и протеина. Так, содержание в грудке цыпленка-бройлера протеина составляет 19,6 %, жира – 4,1 %, в бедре – 19,8 и 14,4 % соответственно, в спинке – 14,8 и 8,2 % [7].

Проведенная обвалка тушек цыплят-бройлеров представлена в таблице 2.

Анализ анатомической разделки тушек цыплят-бройлеров контрольной и опытных групп свидетельствует о том, что выход массы грудки в среднем колеблется в пределах 40,3-40,8 % (таблица 2). Наибольший выход массы грудки отмечен у 4-й опытной группы. По сравнению с 1-й контрольной группой по данному показателю отмечено превосходство 2-й, 3-й и 4-й опытных групп, которым вводили в рацион мультиэнзимный ферментный препарат «Витазим», на 10,2 %, 8,7 и 14,1 % соответственно. Тенденция к увеличению выхода массы таких частей, как бедро, голень, крыло и выход жира-сырца наблюдается у опытных групп при включении ферментного препарата «Витазим» в сравнении с контролем. Однако, у 2-й, 3-й и 4-й

опытных групп происходит снижение выхода массы спинки по сравнению с 1-й контрольной группой соответственно на 0,9 п.п., 0,3 и 1,6 процентного пункта. Полученные данные были очень высокостойкими.

Таблица 2 – Выход частей тушек мяса цыплят-бройлеров, г

Показатели	Группы			
	1-я контрольная	2-я-опытная	3-я-опытная	4-я-опытная
Масса тушки	1578,6±12,73	1666,9±9,39	1648,1±10,35	1697,0±8,00
Масса грудки	635,4±5,13	675,1±3,80	665,8±4,18	692,4±3,26
Масса бедра	245,9±1,99	263,4±1,48	255,5±1,60	269,8±1,27
Масса голени	204,9±1,66	220,0±1,24	215,9±1,36	225,7±1,06
Масса крала	171,9±1,39	185,0±1,04	181,3±1,14	190,1±0,90
Масса спинки	309,1±2,50	311,7±1,76	318,1±2,00	305,5±1,44
Масса жира-сырца	9,5±0,08	11,7±0,07	11,5±0,07	13,6±0,06

Закключение. 1. Введение сухого мультиэнзимного ферментного препарата «Витазим» в рацион цыплят-бройлеров в дозе 700 г/т комбикорма способствовало увеличению выхода тушек 1-го сорта на 7,8 процентных пунктов.

2. Анатомическая разделка тушек цыплят-бройлеров свидетельствует об увеличении выхода более ценных частей тушек птицы, таких как грудка, бедро, голень, крыло и выход жира-сырца в опытных группах, которым в рацион задавался мультиэнзимный ферментный препарат «Витазим» в дозировках 300, 500 и 700 г/т комбикорма по сравнению с контрольной группой.

Литература. 1. Дубина, И. Н. Методические указания по отбору биологического материала для проведения лабораторных исследований: утв. ГУВ МСХиП РБ 27.11.2007 г. / И. Н. Дубина. – Витебск : ВГАВМ, 2008. – 20 с. 2. Ерастов, Г. М. Продукты птицеводства в питании человека / Г. М. Ерастов // VI-й Международный ветеринарный конгресс по птицеводству, Москва, 26–29 апреля 2010 г. – М., 2010. – С. 23–27. 3. Программа развития птицеводства Республики Беларусь на 2011–2015 годы / Утверждена постановлением Совета Министров Республики Беларусь 31.03.2006 г., № 444. 4. Медведский, В. А. Ферменты «Пекозим фитаза 5000 G» и «Пекозим фитаза 5000 S» в высокопродуктивном птицеводстве / В. А. Медведский, Е. А. Капитонова, М. С. Орда // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал. – 2010. – Т. 46, вып. 2. – С. 244–247. 5. Садонов, Н. А. Применение биологически активных веществ для повышения продуктивности и естественной резистентности организма птицы и свиней: Монография. / Н. А. Садонов, Л. В. Шульга. – Горки: Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, 2013. – 155 с. 6. Шульга, Л. В. Влияние мультиэнзимных ферментных препаратов на показатели естественных защитных сил организма кур-несушек / Л.В. Шульга // Аграрное производство и охрана природы: материалы X Междунар. научно-практ. конференции молодых ученых, Витебск, 26–27 мая 2011 г. – Витебск: ВГАВМ, 2011 г. – С. 164–165. 7. Шляхтунов, В. И. Технология производства мяса м мясных продуктов: учеб. пособие / В. И. Шляхтунов. – Минск: Техноперспектива. – 2010. – С. 11–146. 8. Фисинин, В. Птицеводство на рубеже нового столетия / В. Фисинин // Птицеводство. – 1999. – № 2. – С. 4–8.

Статья передана в печать 07.04.2015 г.

УДК 619 : 612.1 : 636.2

СТАНОВЛЕНИЕ ГЕМОПОЭЗА У ТЕЛЯТ НА РАННИХ ЭТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА ПРИ ДЕЙСТВИИ ПИРИДОКСИНА ГИДРОХЛОРИДА

Яремко О.В.

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

Исследовано влияние различных доз пиридоксина гидрохлорида на показатели гемопоэза и скорость оседания эритроцитов у телят с 1- по 90 день жизни. Установлено, что наибольшие изменения в показателях эритро- и лейкопоэза пиридоксин гидрохлорид вызывает в течение первого месяца жизни телят. С возрастом телят величина влияния пиридоксина гидрохлорида на показатели гемопоэза уменьшается.

The effect of different doses of pyridoxine hydrochloride on the hematopoiesis indicators and erythrocyte sedimentation rate in calves from 1 - to 90 days from birth. It has been determined that the greatest changes in terms of erythro- and pyridoxine hydrochloride leukopoiesis causes during the first month of calves lives. Growing the calves the value of pyridoxine hydrochloride impact on the hematopoiesis indicators decreases.

Ключевые слова: физиология, гемопоэз, СОЭ, витамин В₆, пиридоксин гидрохлорид, телята.

Keywords: physiology, hemopoiesis, ESR, vitamin B₆, pyridoxine hydrochloride, calves.

Введение. По мнению многих исследователей (Ковальский, 1968; Букин, 1965; Труфанов, 1972, Арешина, 1976; Петухова, 1981, 1992) важную роль в системе полноценного кормления играют водорастворимые витамины, в частности, витамины группы В, и в частности витамин В₆, которые выполняют в организме функции биологических катализаторов или компонентов каталитических систем, обеспечивающих

регуляцию процессов обмена веществ. По данным ветеринарных лабораторий дефицит жизненно важных веществ в организме чаще всего сопровождается скрытым нарушением обменных процессов. Типичные для дефицита того или иного нутриента симптомы не выражены. Диагноз заболевания на этой стадии можно поставить лишь специальными и, в частности, лабораторными методами исследования. К таким заболеваниям относят и В гиповитаминозы, и в частности гиповитаминоз, связанный с недостаточностью витамина В₆.

Потребность животных в витаминах колеблется в зависимости от возраста, физиологического состояния, уровня производительности, сезона года, технологии и условий содержания. У жвачных животных обеспечение водорастворимыми витаминами, и, в частности, витаминами группы В, к которым относится пиридоксин гидрохлорид, в значительной степени удовлетворяется за счет их синтеза микрофлорой рубца, это установлено исследованиями ряда ученых (Коп, Porter, 1954; Коленько, Гоголадзе, 1970; Иванов, Георгиевский, 1983; Алиев, 1985; Вальдман и др., 1993.). Однако обеспеченности жвачных водорастворимыми витаминами уделяется мало внимания, а проводимые исследования, как правило, направлены на идентификацию витаминов, синтезируемых в рубце, а витаминный состав биомассы бактерий и инфузорий в рубце коров при различных условиях питания практически не изучен. Слабо представлены в литературе витаминсинтезирующие свойства некоторых видов микроорганизмов рубца, и практически не выяснен механизм регуляции ими синтеза витаминов и не изучено влияние витаминов на становление онтогенеза на ранних стадиях у телят [3, 5].

У новорожденных телят кишечный тип пищеварения, рубец физиологически не активен, и только со временем постепенно появляются и развиваются свойственные ему функции [4]. Именно поэтому целью наших исследований было изучить влияние пиридоксина гидрохлорида в различных дозах на показатели гемопоза и скорость оседания эритроцитов у телят на ранних этапах постнатального онтогенеза.

Материал и методы исследований. Опыты проведены в агрофирме «Медоборы» Тернопольского района Тернопольской области на телятах с 1- по 90 день жизни. По принципу аналогов сформировано шесть групп (контрольная и пять опытных) новорожденных телят, по 5 животных в каждой. Все подопытные животные были клинически здоровыми, их кормление осуществлялось по сбалансированному рациону. Телята контрольной группы получали основной рацион, а опытным с первого дня жизни выпаивали витамин В₆ сначала с молозивом, а потом с молоком, в различных дозах: I группа - 1,0, II - 2,0, III - 3,0, IV - 4,0 и V группа - 5,0 мг/кг массы тела (мг/кг м.т.). Отбор проб венозной крови для исследования проводили на 1, 5, 21, 60 и 90 дни после рождения перед утренним кормлением. В крови определяли показатели гемопоза и скорость оседания эритроцитов по общепринятым методикам. Полученный цифровой материал обработан методами вариационной статистики на персональном компьютере с использованием программы Microsoft Excel "Statistica 7". Результаты средних значений считали статистически достоверными при $p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$ и $p < 0,001^{***}$.

Результаты исследований. Установлено (таблица 1), что в контрольной группе телят количество эритроцитов в крови с 1 по 90 день снижается с 7,72 до 5,73 Т/л. Подобные изменения происходят и в крови телят опытных групп. Достоверное увеличение количества эритроцитов в их крови установлено на 5 день при скормливании 5,0 мг/кг м.т. витамина В₆ ($p < 0,05$), на 21 и 60 день - в дозах 3,0, 4,0 и 5,0 мг/кг м.т. (соответственно $p < 0,05$, $p < 0,01$). Скармливание пиридоксина гидрохлорида в течение 90 дней было достоверным начиная с 2,0 мг/кг м.т. ($p < 0,05$).

Таблица 1 - Содержание эритроцитов в крови телят молочного периода выращивания, Т/л (M±m, n=5)

день	Группы телят					
	Контрольная группа	I	II	III	IV	V
1	7,72±0,41	7,68±0,38	7,89±0,29	7,75±0,41	7,81±0,26	7,83±0,34
5	7,04±0,12	7,41±0,26	7,49±0,34	7,45±0,19	7,46±0,18	7,52±0,16*
21	6,24±0,18 ^{°°}	6,70±0,27	6,76±0,29	6,91±0,21*	7,01±0,13**	7,03±0,12**
60	6,09±0,22 ^{°°}	6,41±0,19	6,59±0,27	6,72±0,14*	6,73±0,15*	6,74±0,13*
90	5,73±0,13 ^{°°}	6,03±0,16	6,15±0,12*	6,16±0,13*	6,22±0,16*	6,20±0,15*

*Примечание: в этой и следующих таблицах: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ - достоверные различия опытных групп по сравнению с контрольными; ° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; °°° $p < 0,001$ - достоверные различия контрольной группы по сравнению с животными предыдущего возрастного периода.*

Самое высокое содержание гемоглобина обнаружено в крови новорожденных телят (таблица 2). С возрастом его уровень снизился в контрольной группе, на 5 день жизни - на 4,1%, на 21 - 12,8%, 60 - 16,4%, 90 - 22,6%. При этом достоверные различия были установлены с 21 дня жизни телят ($p < 0,05$, $p < 0,01$).

Скармливание пиридоксина гидрохлорида в дозах от 1 до 5 мг/кг м.т. в молозивный период не приводило к изменениям концентрации гемоглобина в крови телят опытных групп, однако на 21 день привело к повышению исследуемого показателя в крови телят IV группы на 9,4% и V группы на 9,7% ($p < 0,05$), на 60 день - I группы на 7,1%, II - на 8,7%, III - 11,6% ($p < 0,05$), IV - 12,2% ($p < 0,05$) и V - на 12,5% ($p < 0,05$) относительно контрольной группы. Достоверно выше содержание гемоглобина в крови телят II, III, IV и V групп ($p < 0,05$) оказалось на 90 день опыта.

Таблица 2 - Концентрация гемоглобина в крови телят молочного периода при воздействии пиридоксина гидрохлорида, г/л ($M \pm m$, n=5)

день	Группы телят					
	Контрольная группа	I	II	III	IV	V
1	141,3±6,2	140,7±5,9	140,9±7,1	141,5±6,3	141,8±5,4	141,4±7,0
5	135,5±4,9	138,8±5,3	140,1±5,6	143,8±4,6	146,7±5,5	147,0±5,2
21	123,2±3,6°	137,5±5,9	139,2±5,2	142,8±5,6*	144,8±6,1*	145,1±5,7*
60	118,1±4,5°	126,5±4,2	128,4±4,8	131,8±3,3*	132,5±3,5*	132,9±3,7*
90	109,4±3,7°°	126,1±4,8*	129,8±5,1*	130,4±5,3*	131,7±5,8*	131,1±5,9*

В крови телят за молочный период изменялось и количество лейкоцитов (таблица 3). Самым высоким оно было у телят 1 дня жизни и постепенно снижалось до 90 дня: на 5 день (2,8%), на 21 день (20,5%), на 60 (25,5%) и на 90 (35,9%).

Таблица 3 - Влияние витамина B₆ на количество лейкоцитов в крови телят молочного периода выращивания, 10⁹/л ($M \pm m$, n=5)

день	Группы телят					
	Контрольная группа	I	II	III	IV	V
1	11,75±0,42	11,90±0,53	11,67±0,64	11,81±0,48	11,87±0,55	11,83±0,62
5	11,42±0,29	11,68±0,29	11,52±0,36	11,54±0,33	11,57±0,35	11,55±0,44
21	9,34±0,25	9,78±0,24	9,88±0,21	9,95±0,22	10,00±0,13*	10,02±0,16*
60	8,76±0,19	9,26±0,23	9,35±0,29	9,38±0,16*	9,41±0,19*	9,45±0,22*
90	7,53±0,11	7,86±0,19	7,91±0,12*	7,93±0,13*	7,94±0,12*	7,94±0,13*

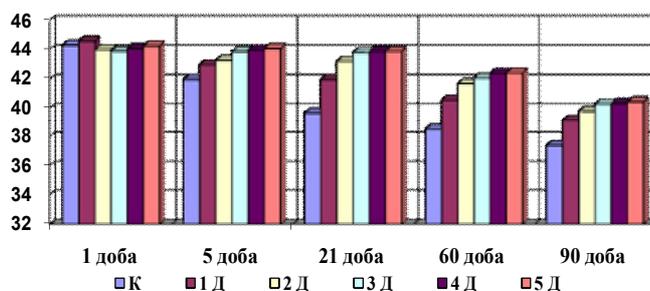
Добавление витамина B₆ в молозиво и молоко замедляло снижение количества лейкоцитов в крови телят по сравнению с контрольной группой, и эта разница оказалась достоверной на 21 день при дозах 4 и 5 мг/кг ж.м. ($p < 0,05$), 60 и 90 день при дозах 3, 4 и 5 мг/кг м.т. ($p < 0,05$).

Добавление к молозиву и молоку пиридоксина гидрохлорида не влияло на количественное содержание тромбоцитов в крови телят, однако изменения выявлялись лишь в возрастном аспекте, о чем свидетельствуют данные таблицы 4.

Таблица 4 - Количество тромбоцитов в крови телят молочного периода выращивания и влияние на них витамина B₆, в различных дозах 10⁹/л ($M \pm m$, n=5)

Группы телят	день				
	1	5	21	60	90
Контрольная группа	244,6±18,5	247,8±19,1	310,3±20,4°	323,3±24,3°	352,0±25,4°°
I	245,4±18,3	248,5±18,7	310,4±21,2°	323,6±25,7°	352,1±24,6°°
II	244,8±18,1	251,1±19,6	310,6±22,1°	324,1±23,9°	352,4±26,1°°
III	245,6±18,4	249,2±20,5	310,8±21,5°	324,7±24,8°	353,2±25,0°°
IV	247,1±17,7	251,0±19,8	310,2±20,7°	324,1±23,7°	352,9±23,8°°
V	246,7±19,1	250,3±20,1	310,0±19,8°	324,2±24,5°	352,5±25,2°°

В контрольной группе телят на 5 день жизни количество тромбоцитов выросло по сравнению с 1 днем жизни на 1,3%, на 21 день – 26,9%, на 60 – 32,2% и на 90 день – на 43,9%. Необходимо отметить, что на 21 и 60 день жизни различия по сравнению с первым днем были достоверными ($p < 0,05$), а на 90 день высоко достоверными ($p < 0,01$). Достоверные различия относительно 1 дня жизни были установлены и в крови телят опытных групп на 21 и 60 день ($p < 0,05$) и на 90 день ($p < 0,01$).

**Рисунок 1 - Гематокритная величина крови телят, % ($M \pm m$, n=5)**

В процессе онтогенеза, первые месяцы после рождения телят, гематокритная величина (соотношение жидкой части - плазмы и форменных элементов) изменялась относительно начала опыта (рисунок 1). Установлено, что в начале опыта гематокритная величина была примерно на одном уровне во всех исследуемых группах телят.

Скармливание пиридоксина гидрохлорида приводило к замедлению снижения гематокритной величины (5 день жизни) относительно телят контрольной группы, и разница между ними составляла в I группе - 1,6%, во II - 1,3%, в III - 1,9%, IV - 2,1%, V - 2,1%. Еще больше разница была установлена на 21 день опыта, которая составляла соответственно 2,3%, 3,5%, 4,1%, 4,2% и 4,2%. На 60 день жизни животных происходило снижение гематокритной величины по сравнению с 21 днем опыта, однако, исследуемый показатель был выше у телят опытных групп. На 90 день скармливания витамина В₆ телятам гематокритная величина была выше по сравнению с контрольной группой телят, а разница составила в I группе - 1,8% , во II - 2,4% , в III - 2,9% , IV - 2,9%, V - 3,0%.

С изменениями гематокритной величины в онтогенезе происходят изменения СОЭ, которая зависит больше от свойств плазмы, чем форменных элементов крови. Результаты исследования влияния пиридоксина гидрохлорида на скорость оседания эритроцитов крови телят молочного периода выращивания показано в таблице 5.

Таблица 5. Скорость оседания эритроцитов в крови телят молочного периода выращивания, мм/час. (M±m, n=5)

Группы телят	день				
	1	5	21	60	90
Контроль	0,51±0,04	0,57±0,04	0,80±0,06 ^{oo}	0,93±0,07 ^{oo}	1,05±0,08 ^{ooo}
I	0,55±0,03	0,57±0,05	0,82±0,07 ^{oo}	0,96±0,06 ^{ooo}	1,08±0,09 ^{oo}
II	0,49±0,02	0,57±0,04	0,83±0,07 ^{oo}	0,97±0,08 ^{oo}	1,09±0,08 ^{ooo}
III	0,53±0,04	0,59±0,05	0,84±0,06 ^{oo}	0,98±0,07 ^{oo}	1,10±0,07 ^{ooo}
IV	0,50±0,02	0,61±0,05	0,85±0,07 ^{oo}	0,98±0,09 ^{oo}	1,10±0,09 ^{ooo}
V	0,57±0,05	0,62±0,05	0,85±0,07 ^{oo}	0,98±0,06 ^{oo}	1,10±0,08 ^{ooo}

Скорость оседания эритроцитов крови телят молочного периода выращивания больше зависит от возрастных особенностей, чем от влияния экзогенно введенного пиридоксина гидрохлорида.

В результате проведенного эксперимента отмечено достоверное возрастание СОЭ с 0,51 мм/час. за 1 день до 1,05 мм/час на 90 день в контрольной группе. Вероятной причиной этого можно считать влияние стресса на организм телят при переходе на другой рацион кормления. В опытных группах изменение в СОЭ отмечено начиная с 21 суток опыта. Так, в I опытной группе СОЭ возросла относительно контрольной группы на 2,5%, во II - на 3,7% , в III - 5,0% , в IV и V - 6,2%. На 60 день - в первой группе на 3,2% , во II - на 4,3% , в III, IV и V - на 5,4%. Выше СОЭ было и на 90 день скармливания пиридоксина гидрохлорида по сравнению с контрольной группой, и эта разница составляла в первой группе 0,03 мм/час, во II - 0,04, в III, IV и V по 0,05 мм/час. Показатели гемопоэза и скорости оседания эритроцитов у телят с первых до 90 суток от рождения в контрольной группе и в результате действия различных доз пиридоксина гидрохлорида не выходили за пределы физиологической нормы, и согласуются с исследованиями других авторов [1, 2].

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что наибольшие изменения в показателях эритро - и лейкопоэза пиридоксин гидрохлорид вызывает в течение первого месяца жизни телят. С возрастом телят уменьшается величина влияния пиридоксина гидрохлорида на показатели гемопоэза (количество эритроцитов, лейкоцитов и содержание гемоглобина). Оптимальной разовой дозой пиридоксина для телят в возрасте 1-90 дней является 2 мг/кг м.т., в возрасте 1-60 дней - 3 мг/кг м.т. в возрасте 1-21 день - 4 мг/кг ж.м. и в возрасте 1-5 дней - 5 мг/кг м.т.

Литература. 1. Гноєвий І. В. Годівля і відтворення поголів'я сільськогосподарських тварин в Україні: монограф. І. В. Гноєвий // Інститут тваринництва УААН, Харків. держ. зоовет. акад. Міністерства аграрної політики України. – Х. Конкур, 2006. – 400 с. 2. Головач П.І. Вікові особливості морфофункціональних показників крові у великої рогатої худоби української чорно-рябої молочної породи / П.І.Головач // Ветеринарна медицина. Міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2003. – В. 82. 3. Земляной В. Витаминно-минеральное обеспечение / В. Земляной // Животноводство России. - 2006. - №6. – С. 23-29. 4. Камбур М. Д. Формування рубцевого травлення у телят-молочників залежно від їх функціонального стану після родів /М. Д. Камбур // науково технічні засоби Державного агроєкологічного університету. – Житомир, 2007. – Т.2, вип.19, №2. – С. 109-114. 5. Спиричев В. Б. Витамины, витаминоподобные и минеральные вещества : справочн. для провизоров и фармацевтов / В. Б. Спиричев – М. : Изд-во МЛЦФЭР, 2004. – 233 с.

Статья передана в печать 21.04.2015 г.

ЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ ЖИВОТНЫХ

УДК 619:616.992.28-085.371:636.5.087.72:611.36/61

ВЛИЯНИЕ ПОЛИФАМА НА МОРФОЛОГИЮ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК У ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ИББ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО СОЧЕТАННОГО МИКОТОКСИКОЗА

Аль-Араджи Ф.С., Большакова Е.И., Громов И.Н., Корчагина Д.В., Большаков С.А.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Применение цыплятам энтеросорбента полифама профилактирует развитие структурных изменений со стороны паренхимы печени и почек, активизирует иммуноморфологические процессы у цыплят, вакцинированных против ИББ на фоне сочетанного хронического микотоксикоза.

The use of chickens enterosorbent polyfam as prophylaxis develop structural changes in the liver and kidney parenchyma, activates immunomorphological processes in chickens vaccinated against IBD on a background of chronic combined mycotoxicosis.

Ключевые слова: энтеросорбент, полифам, микотоксины, печень, почки, цыплята, вакцинация.
Keywords: enterosorbent, polypham, mycotoxins, liver, kidneys, chicken, vaccination.

Введение. Микотоксикозы являются одной из наиболее экономически значимых и сложных проблем современного птицеводства [1,2,3]. Экономический ущерб от микотоксикозов существенный и определяется высокой летальностью, вынужденным убоем, заметным снижением продуктивности, затратами на лечение и выбраковкой большого количества кормов. При этом токсичность корма возрастает при одновременном поступлении в организм птицы нескольких видов микотоксинов: деоксиниваленола, зероленона, афлатоксина, охратоксина и приводит к развитию хронических микотоксикозов [7,8]. Данные токсины обладают выраженным гепато- и нефротоксическим действием, вызывают резкое угнетение иммунной реактивности организма птиц, что приводит к снижению эффективности проводимых вакцинаций и возникновению поствакцинальных осложнений. Поэтому профилактика микотоксикозов является важной проблемой для специалистов птицефабрик. Одним из современных подходов к проблеме снижения вреда от микотоксинов у животных является применение энтеросорбентов [4,5,6]. Они препятствуют всасыванию микотоксинов из пищеварительного тракта, снижают их токсичность и предохраняют продукцию птицеводства от загрязнения, при этом практически не изменяют питательность корма. В связи с этим поиск, разработка и внедрение в производство новых эффективных, удобных в применении и доступных средств профилактики микотоксикозов животных является актуальной задачей и имеет важное научно-практическое значение.

Цель работы – изучение влияния энтеросорбента полифама на морфологию печени и почек у цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни (ИББ) на фоне хронического сочетанного микотоксикоза.

Материал и методы исследования. Экспериментальная часть работы была выполнена в условиях клиники кафедры эпизоотологии, а также лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии УО ВГАВМ. Исследования были проведены на 100 цыплятах, разделенных на 5 групп, по 20 птиц в каждой. Цыплят 1-й группы иммунизировали против ИББ на фоне применения энтеросорбента полифама и комбикорма, естественно контаминированного токсинами грибов в концентрациях: афлатоксин В1 – 0,001 мг/кг; Т-2 токсин – 0,09 мг/кг; деоксиниваленол (ДОН) – 1,24 мг/кг; зеараленон – 0,068 мг/кг; охратоксин – 0,005 мг/кг; фумонизины – 0,2 мг/кг корма. Полифам применяли цыплятам в течение всего цикла выращивания в дозе 5 г/кг корма. В 15 и 22-дневном возрасте цыплят данной группы иммунизировали против ИББ вирус-вакциной из штамма «Винтерфильд 2512». Вакцину применяли согласно Инструкции по ее применению, перорально, 2-кратно. Цыплят 2-й группы в 15 и 22-дневном возрасте иммунизировали против ИББ вирус-вакциной из штамма «Винтерфильд 2512». Цыплятам этой группы скармливали комбикорм, загрязненный микотоксинами, но без применения полифама. Цыплят 3-й группы в 15 и 22-дневном возрасте иммунизировали против ИББ вакциной из штамма «Винтерфильд 2512» на фоне скармливания комбикорма, не загрязненного микотоксинами. Полифам они не получали. Цыплятам 4-й группы в течение всего цикла выращивания скармливали комбикорм, естественно контаминированный токсинами грибов. Иммунизация против ИББ не проводилась. Полифам цыплятам этой группы также не применяли. Цыплятам 5-й группы в течение всего цикла выращивания скармливали комбикорм, не контаминированный токсинами грибов. Иммунизация против ИББ не проводилась. Полифам цыплятам этой группы также не применяли.

На 7-й день после первой, 7-й и 14-й дни после второй вакцинации по 4-5 птиц из каждой группы убивали. Проводили вскрытие убитых цыплят, изучали характер патоморфологических изменений в печени и почках. Для проведения гистологического исследования кусочки указанных органов фиксировали в 10%-ном растворе формалина. Зафиксированный материал подвергали обезвоживанию и инфильтрации парафином.

Гистологические срезы готовили на санном микротоме. После депарафинирования гистосрезов их окрашивали гематоксилин-эозином и микроскопировали. Полученные данные документированы микрофотографированием с использованием цифровой камеры «ДСМ-510», а также программного обеспечения по вводу и предобработке изображения «ScopePhoto».

Результаты исследований показали, что в 22-дневном возрасте существенных макроскопических изменений в печени птиц всех групп не наблюдалось (рисунок 1). Орган не был увеличен в размере, форма не изменена, цвет темно-коричневый, консистенция упругая, рисунок дольчатого строения плохо выражен. У цыплят 2-ой группы в 29-дневном и 36-дневном возрасте были выражены признаки белкового и жирового гепатоза. Орган увеличивался в объеме, приобретал песочно-желтый цвет и дряблую консистенцию. У отдельных цыплят 2-ой группы отмечались признаки токсической дистрофии печени (рисунок 2). При этом цвет органа изменялся до глинистого, под капсулой и в паренхиме выявлялись точечные и пятнистые кровоизлияния. Почки цыплят всех групп в 22-дневном и 29-дневном возрасте не имели макроскопических изменений. Они не были увеличены в размере, форма не изменена, цвет коричневый, консистенция упругая, рисунок дольчатого строения выражен. Лишь у 36-дневных цыплят 2-ой группы выявлялись признаки белкового нефроза. При этом они слегка увеличивались в размере, приобретали светлый оттенок и мягкую консистенцию.

Результаты гистологического исследования показали, что на 22 день исследования печень интактных цыплят-бройлеров 5 группы представляла собой паренхиматозный орган, покрытый очень тонкой соединительно-тканной капсулой. Снаружи она была покрыта одним слоем клеток мезотелия и образована 8-12 слоями фибробластов, коллагеновых волокон было немного. В капсуле выявлялись пучки нервов, артерии и вены малого калибра. Междольковые соединительно-тканые прослойки не были выражены. В области печеночных триад стромальный компонент был также плохо выражен, однако хорошо просматривались междольковые вена, артерия и желчевыводящий проток. Печеночные дольки были образованы печеночными балками, отходящими радиально от центральной вены, с едва различимым внутридольковым желчным капилляром. Гепатоциты представлены кубическими эпителиальными клетками. Цитоплазма однородная, оксифильная. Ядро средних размеров, округлое, хорошо прокрашивается, хроматин в основном хорошо конденсированный. Стенки синусоидных капилляров были образованы однослойным плоским эпителием. Пространства Диссе не расширены. В этот срок исследования гистологических изменений в паренхиме печени цыплят 1, 4, 5 и 6 групп не обнаружено (рисунок 3). У птицы 2 группы, вакцинированной и получавшей корм с микотоксинами, в паренхиме гепатоцитов в этот срок выявлялись зернистая и крупнокапельная жировая дистрофия (рисунок 4). У птицы 2, 3 и 4 групп иммуноморфологические реакции характеризовались появлением единичных лимфоидно-макрофагальных гранул разных размеров. Во 1 группе вакцинированных цыплят, получавших плохой корм с микотоксинами и абсорбентом полифамом, на 22 день исследования обнаруживались единичные и множественные гранулемы в дольках.

На 29 день исследования в печени цыплят 1 и 5 групп гистологическая структура гепатоцитов печени находилась в норме. У цыплят-бройлеров 3 и 4 групп в отдельных группах печеночных клеток обнаруживалась зернистая и мелкокапельная жировая дистрофия. В печени птицы 2 группы, вакцинированной и получавшей корм с микотоксинами, обнаруживалась зернистая дистрофия в гепатоцитах с участками некробиоза, некроза, с кровоизлияниями, интерстициальный гепатит. Результаты исследования также показали, что у цыплят 3 и 4 групп выявлялись множественные разных размеров гранулемы. У птиц 2 группы обнаруживались периваскулиты, единичные мелкие гранулемы и лимфоидно-макрофагальные пролифераты. В то же время в 1 группе вакцинированных цыплят, получавших плохой корм с микотоксинами и абсорбент полифам, обнаруживались небольшие периваскулиты и обширные пролифераты в строме и паренхиме долек, а также единичные и множественные гранулемы.

На 36 день исследования в печени интактных цыплят 5 группы гистологические изменения в паренхиме и строме печени не выявлялись. У птицы 4 группы выявлялись обширные очаги некробиоза и некроза, небольшие участки склеротизации, интерстициальный гепатит (рисунок 5), очень мощные лимфоидно-макрофагальные пролифераты вокруг триад, единичные и множественные мелкие гранулемы. У цыплят-бройлеров 3 группы выявлялись участки с вакуольной, мелко и крупнокапельной жировой дистрофией гепатоцитов, слабой лимфоидно-макрофагальной пролиферацией. Присутствовали единичные гранулемы. В печени цыплят 2 группы обнаруживались участки поражения с зернистой и мелкокапельной жировой дистрофией, некробиоза с кровоизлияниями, некроза и лизиса гепатоцитов (рисунок 6) с выраженной лимфоидно-макрофагальной и эозинофильной реакцией. Также выявлялись единичные гранулемы средних размеров в паренхиме и интерстиции. В 1 группе цыплят паренхима печени была в норме. Выявлялись разных размеров периваскулиты и лимфоидно-макрофагальные пролифераты, сформированные вокруг центральных вен, а также единичные и множественные гранулемы.

На 22 день исследования в корковом веществе долек почек интактных цыплят 5 группы выявлялись основные структурные компоненты: сосудистые клубочки и мочевыводящие каналы. Клубочки были образованы капиллярной сетью, окруженной однослойным плоским эпителием и подоцитами. Последние образовывали наружный листок капсулы нефронов. Полость капсулы нефрона примерно 4-5 мкм. Проксимальные и дистальные мочеобразующие каналы были выстланы высоким кубическим эпителием, в цитоплазме которых выявлялись ядра округлой формы и митохондрии в виде мелкой оксифильной зернистости. В просвете проксимальных канальцев иногда присутствовали белковые массы. В мозговом веществе локализовались пучки собирательных трубочек в количестве 200-250. Они имели широкие просветы и были выстланы эпителием от плоского до призматического. В воротах долек локализовались внутридольковый выводящий проток и третичные ветви мочеточников. Они имели мощную стенку и выстланы многослойным переходным эпителием. Со стороны паренхимы и стромальных элементов структурных изменений не выявлено (рисунок 7). У цыплят 1-4 групп в этот срок исследований наблюдались сходные изменения со стороны сосудисто-стромального компонента и паренхимы. Так, был выражен серозный воспалительный отек сосудистых клубочков, что проявлялось резким расширением капсулы нефронов, набуханием эндотелия капилляров и подоцитов с отслоением последних (рисунок 8). В отдельных

проксимальных канальцах, расположенных в подкапсулярных пространствах вокруг клубочков, отмечалась вакуольная дистрофия эпителия. Кроме того, выявлялась острая венозная гиперемия, главным образом, центральная часть долек почки. Иммуноморфологические реакции в почках характеризовались появлением единичных (у птиц 3 и 4 групп) и множественных (у цыплят 2 группы) гранулем небольших размеров, формированием обширных лимфоидно-макрофагальных пролифератов и множественных крупных гранулем (у птиц 1 группы).



Рисунок 1 – Печень интактного цыпленка 36-дневного возраста (5 группа) в состоянии нормы



Рисунок 2 – Печень 36-дневного цыпленка 2 группы в состоянии токсической дистрофии

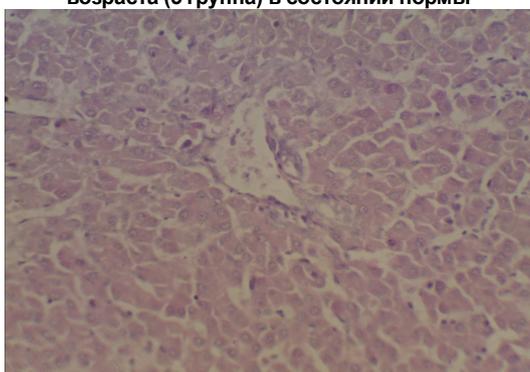


Рисунок 3 – Печень 22-дневного цыпленка 5 группы без гистологических изменений. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

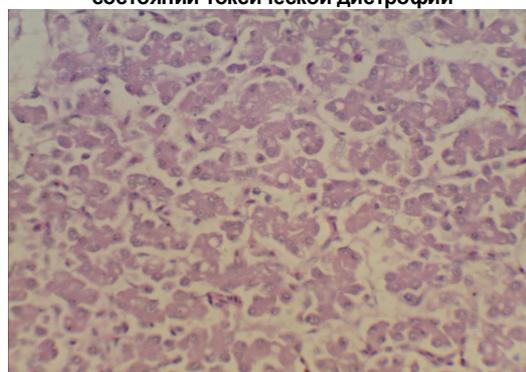


Рисунок 4 – Крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов печени 22-дневного цыпленка 2 группы. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

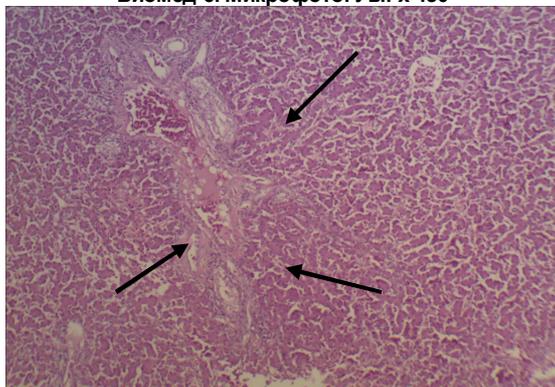


Рисунок 5 – Интерстициальный гепатит у 36-дневного цыпленка 4 группы. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

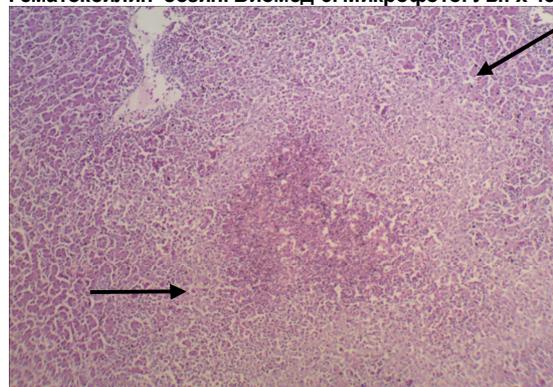


Рисунок 6 – Коагуляционный некроз паренхимы печени 36-дневного цыпленка 2 группы. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

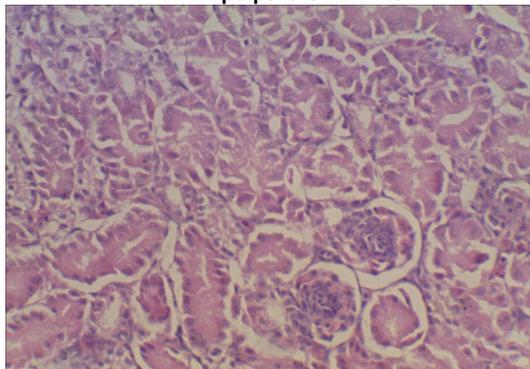


Рисунок 7 - Почка 22-дневного цыпленка 5 группы без гистологических изменений. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

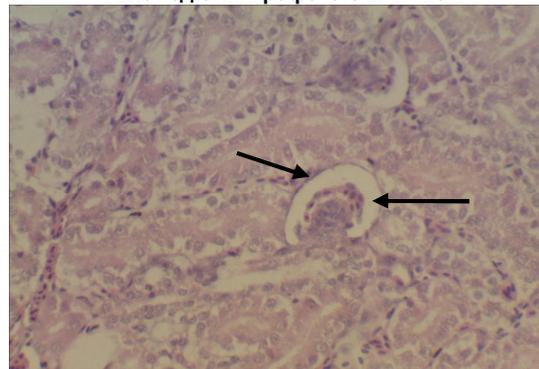


Рисунок 8 - Серозный гломерулит у 22-дневного цыпленка 2 группы. Гематоксилин–эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

На 29 день исследования в паренхиме почек цыплят 1, 3 и 5 групп гистологических изменений установлено не было. У птицы 2 и 4 групп обнаруживались обширные участки выраженной зернистой и вакуольной дистрофии с некрозом и лизисом эпителия и деструкцией канальцев, серозный гломерулит, а также небольших размеров единичные гранулемы в подкапсулярных пространствах. У вакцинированных цыплят 3 группы, выявлялись единичные и множественные лимфоидно-макрофагальные гранулемы и узелки, мелкие пролифераты, состоящие из 10-20 лимфоцитов. У птицы 1 группы основные изменения наблюдались со стороны сосудистых клубочков и сосудистого русла. Выраженная гиперемия капилляров клубочков. Отек, гиперплазия эндотелия капилляров. Переполнение эритроцитами пространства между слоем подоцитов и капиллярной сетью, почти с их отслоением. Резкое расширение капсулы Шумлянско-го. В проксимальных канальцах, расположенных вблизи таких клубочков, развивалась вакуольная дистрофия эпителия. Также выявлялись выраженные обширные, единичные и множественные лимфоидно-макрофагальные пролифераты, единичные обширные гранулемы в паренхиме почек.

На 36 день исследования в почках цыплят 5 группы гистологические изменения не выявлялись. У птицы 4 группы в этот срок исследования наблюдались гиперемия, серозный отек и увеличение в строме клубочков числа фибробластов. Кроме того, отмечено резкое расширение канальцев с выраженной атрофией эпителия, незначительные участки зернистой, вакуольной и мелкокапельной жировой дистрофии (рисунок 9). У вакцинированных цыплят 3 группы отмечены вакуольная и крупнокапельная жировая дистрофия эпителия отдельных проксимальных канальцев, а также единичные гранулемы. У птицы 2 группы выявлялись единичные лимфоидно-макрофагальные гранулемы крупных размеров, зернистая и крупнокапельная жировая дистрофия отдельных групп канальцев преимущественно под капсулой, склероз отдельных клубочков. У цыплят 1 группы происходило формирование множественных лимфоидно-макрофагальных гранулем и лимфоидных узелков (рисунок 10).

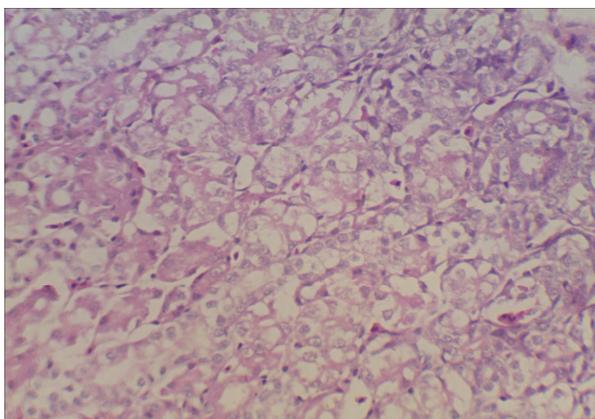


Рисунок 9 - Вакуольная дистрофия эпителия канальцев почки 36-дневного цыпленка 1 группы. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

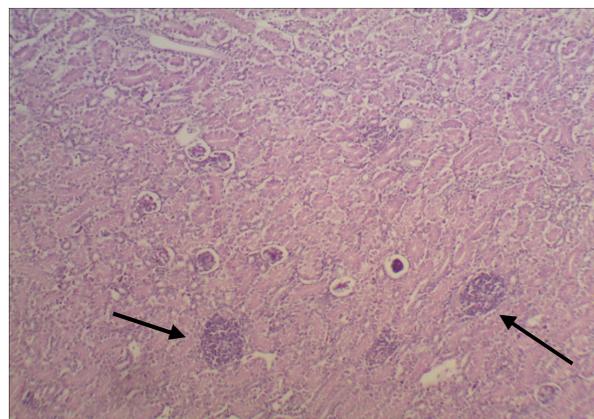


Рисунок 10 - Формирование лимфоидных узелков в почке 36-дневного цыпленка 1 группы. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

Закключение. Скармливание цыплятам корма, естественно контаминированного токсинами грибов, приводит к развитию существенных морфологических изменений в печени и почках (зернистая, вакуольная, мелко- и крупнокапельная жирования дистрофия эпителия, серозный гломерулит, лимфоидно-макрофагальные периваскулиты, пролифераты и гранулемы), наиболее выраженных в 29-36-дневном возрасте. Иммунизация цыплят вирус-вакциной против ИББ из штамма «Винтерфильд 2512» на фоне хронического сочетанного микотоксикоза усиливает тяжесть патоморфологических изменений в указанных органах. Применение цыплятам энтеросорбента полифама профилактирует развитие структурных изменений со стороны паренхимы печени и почек, активизирует иммуноморфологические процессы у цыплят, вакцинированных против ИББ на фоне микотоксикоза.

Литература. 1. Брылин, А. Микотоксикозы птиц / А. Брылин // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – 2009. – №9. – 12-13 с. 2. Гулюшин, С. Кокосовый энтеросорбент против микотоксикозов / С. Гулюшин, Е. Елизарова // *Комбикорма*. – 2011. – № 5. – 72-73 с. 3. Дорофеева, С. Микотоксикозы / С. Дорофеева // *Птицеводство*. – 2003. – № 6. – 15-18 с. 4. Микотоксикозы: значение, диагностика, борьба / В.Н. Афонюшкин [и др.] // *Архив ветеринарных наук*. – 2005. – Т. 6 (53), Ч. 1. – 22-29 с. 5. Папазян, Т. Микотоксины: экономический риск и контроль / Т. Папазян // *Животноводство России*. – 2002. – №8. – 20-21 с. 6. Препараты для лечения и профилактики субклинических микотоксикозов / Г.А. Красников [и др.] // *Ветеринария*. – 2002. – №8. – 14-17 с. 7. Тремасов, М.Я. Проблемы микотоксикозов животных / М.Я. Тремасов, Ф.Г. Ахметов, Л.В. Королева // *Ветеринарный врач*. – 2001. – № 2. – с. 38-39. 8. Effect of a Specific Combination of Mannan-Oligosaccharides and β -Glucans Extracted from Yeast Cell Wall on the Health Status and Growth Performance of Ochratoxicated Broiler Chickens / M. H. H. Awaad [et al.] // *Journal of American Science*. – 2011. – Vol. 7(3). – p. 82-96.

Статья передана в печать 09.04.2015 г.

УДК 619:616.476-097.3:615.371:636.5

ВЛИЯНИЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТА ТОКСИКОМА НА ОРГАНОМЕТРИЧЕСКИЕ, ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ИББ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО СОЧЕТАННОГО МИКОТОКСИКОЗА

Аль Араджи К.Ф.С., Громов И.Н., Дубина И.Н.

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

В статье рассматривается влияние энтеросорбента токсиком на макроморфометрические, гематологические и иммунологические показатели цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни (ИББ) на фоне экспериментального хронического ассоциативного микотоксикоза.

The influence of enterosorbent toxicom on the macromorphometrical, hematological and immunological parameters of chickens, vaccinated against infectious bursal disease (IBD) which fed contaminated ration with the mycotoxins have been observed.

Ключевые слова: антиоксидант, вакцинация, иммунная система, тимус, бурса Фабрициуса, селезенка, кровь, цыплята, инфекционная бурсальная болезнь, микотоксины.

Keywords: enterosorbent, vaccination, immune system, thymus, bursa of Fabricius, spleen, blood, chicken, infectious bursal disease, mycotoxins.

Введение. Проблема микотоксикозов является одной из самых актуальных и сложных в современном птицеводстве. Известно, что во всем мире примерно 25% зерновых продуктов и комбикормов ежегодно поражается микотоксинами [3, 5]. Наши наблюдения показывают, что в настоящее время в большинстве случаев микотоксикозы остаются нераспознанными. При этом существенный урон наносят хронические микотоксикозы: дезоксиниваленоловый, зероленоновый и афлотоксикоз. Данные токсины обладают выраженным гепато- и нефротоксическим действием. На фоне хронической интоксикации происходит резкое угнетение иммунной реактивности организма птиц, что клинически проявляется снижением эффективности проводимых вакцинаций. Часто возникают поствакцинальные осложнения. Кроме того, хронические микотоксикозы осложняются различными вирусными и бактериальными инфекциями. Предотвратить микотоксикозы специалистам птицефабрик крайне трудно, и одним из современных подходов к проблеме снижения вреда от микотоксинов у животных является применение сорбентов. Метод энтеросорбции является наиболее физиологичным, не вызывающим осложнений и не требующим значительных материальных затрат, удобным в применении [6, 8, 9]. Сорбенты снижают биологическую доступность микотоксинов в организме, адсорбируя всасывание микотоксина в желудочно-кишечном тракте, что одновременно снижает его токсическое действие на организм и предохраняет продукцию птицеводства от загрязнения, при этом практически не изменяют питательность корма. В связи с этим разработка и внедрение в производство новых сорбентов является актуальной задачей и имеет важное научно-практическое значение.

Целью наших исследований явилось изучение влияния энтеросорбента токсиком на морфологию органов иммунитета, крови и иммунологические показатели у цыплят, вакцинированных против инфекционной бурсальной болезни (ИББ) на фоне экспериментального хронического сочетанного микотоксикоза.

Материалы и методы исследований. Экспериментальная часть работы была выполнена в условиях клиники кафедры паразитологии, а также лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии УО ВГАВМ. Для проведения исследований в условиях ОАО «Витебская бройлерная птицефабрика» было отобрано 75 цыплят 1-дневного возраста. Цыплят подбирали по принципу аналогов и разделили на 5 групп, по 15 птиц в каждой.

Цыплят 1-ой группы иммунизировали против ИББ на фоне применения энтеросорбента токсиком и комбикорма, контаминированного токсинами грибов в концентрациях: афлатоксин В1 - 0,001 мг/кг; Т-2 токсин - 0,09 мг/кг; дезоксиниваленол (ДОН) - 1,24 мг/кг; зеараленон - 0,068 мг/кг; охратоксин - 0,005 мг/кг; фумонизины - 0,2 мг/кг корма. Токсиком применяли цыплятам в течение всего цикла выращивания (с 1 по 42 день жизни), в дозе 5 г/кг корма. В 15- и 22-дневном возрасте цыплят данной группы иммунизировали против ИББ вирус-вакциной из шт. «Винтерфильд 2512». Вакцину применяли согласно Инструкции по ее применению, перорально, 2-кратно. Цыплят 2-ой группы в 15- и 22-дневном возрасте иммунизировали против ИББ вирус-вакциной из шт. «Винтерфильд 2512». Цыплятам этой группы скармливали комбикорм, загрязненный микотоксинами, но без применения токсиком. Цыплят 3-й группы в 15- и 22-дневном возрасте иммунизировали против ИББ вакциной из шт. «Винтерфильд 2512» на фоне скармливания комбикорма, не загрязненного микотоксинами. Токсиком они не получали. Цыплятам 4-ой группы в течение всего цикла выращивания скармливали комбикорм, контаминированный токсинами грибов. Иммунизация против ИББ не проводилась. Токсиком цыплятам этой группы также не применяли. Цыплятам 5-ой группы в течение всего цикла выращивания скармливали комбикорм, не контаминированный токсинами грибов. Иммунизация против ИББ не проводилась. Токсиком цыплятам этой группы также не применяли.

Перед проведением вакцинации птицу 1, 2 и 3 групп выдерживали без дачи питья и корма в течение 6 часов. Поение и кормление птицы возобновляли через 2 часа после иммунизации. Перед применением вакцины растворяли в водопроводной воде и выпаивали цыплятам с таким расчетом, чтобы на одну птицу приходилась одна доза вакцины.

На 7-й день после первой, 7-й и 14-й дни после второй вакцинации проводили контрольное взвешивание цыплят. От 5 птиц из каждой группы брали кровь для морфологических исследований и получения сыворотки. Определяли содержание специфических антител к вирусу ИББ. В эти же сроки по 5 цыплят из каждой группы

убивали. Для органомерических исследований отбирали тимус, фабрициеву бурсу и селезенку. Определяли абсолютную массу, индекс и линейные размеры указанных органов. Взвешивание проводили на электронных весах "Scout Pro SPU 202" фирмы "Ohaus Corporation" (США).

При проведении исследований кровь получали из яремной вены. Для морфологических исследований ее стабилизировали гепарином (2,0–2,5 Ед/мл). Количество эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов подсчитывали в счетной камере с сеткой Горяева по методике И.А. Болотникова и Ю.В. Соловьева [2] в нашей модификации [4]. Лизоцимную активность плазмы крови изучали по В.Г. Дорофейчуку [7], бактерицидную активность – по О.В. Смирновой и Г.А. Кузьминой в модификации Ю.М. Маркова [1]. Содержание гемоглобина в крови определяли гемоглобинцианидным методом.

Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Результаты исследований. Установлено, что в 22-дневном возрасте (в сроки на 7-й день после 1 вакцинации против ИББ) живая масса интактных цыплят 5-й группы составила $635,00 \pm 22,47$ г. У птиц 2-ой и 4-ой групп, получавших микотоксины, данный показатель снижался до уровня $480,00 \pm 44,94$ - $515,00 \pm 42,14$ г ($P < 0,05$) а у цыплят 1-ой и 3-й групп – до уровня $510,00 \pm 53,37$ - $527,50 \pm 53,37$ г ($P > 0,05$). В 29-дневном возрасте (на 7-й день после 2 вакцинации против ИББ) у птиц 1-ой, 3-й и 5-ой групп показатели массы тела различались недостоверно. У цыплят 2-й и 4-ой групп живая масса составила соответственно $720,00 \pm 19,66$ г и $775,00 \pm 14,05$ г (в контроле - $1000,00 \pm 84,27$ г; $P < 0,05$). Сходные изменения отмечены у цыплят 36-дневного возраста (на 14-й день после 2 иммунизации против ИББ). Так, у птиц 3-й и 5-й групп масса тела уменьшалась на 8-12% ($P > 0,05$), а у цыплят 2-ой и 4-й групп – на 28-36% ($P < 0,05$).

Результаты органомерических исследований показали, что на 7-й день после 1-ой вакцинации у птиц 1-5-ой групп абсолютная масса, индекс и линейные размеры тимуса и фабрициевой бursы различались недостоверно. Абсолютная масса селезенки у цыплят 1-ой и 3-й групп находилась на уровне $1,05 \pm 0,18$ - $1,17 \pm 0,17$ г, а индекс $2,17 \pm 0,53$ – $2,20 \pm 0,21$. У подопытных птиц 2-ой и 4-й групп, получавших микотоксины, абсолютная масса селезенки составила соответственно $0,72 \pm 0,16$ г и $1,06 \pm 0,04$ г, а у интактных цыплят 5-ой группы - $1,34 \pm 0,05$ г ($P < 0,05$). При этом индекс и линейные размеры органа изменялись не достоверно.

На 7-й день после 2-ой вакцинации абсолютная масса тимуса у интактных птиц 5-й группы составила $3,13 \pm 0,22$ г, а у подопытных цыплят 1-ой, 2-ой, 3-й и 4-ой групп - соответственно $2,28 \pm 0,15$ г ($P < 0,01$), $1,08 \pm 0,15$ г ($P < 0,001$), $1,85 \pm 0,35$ г ($P < 0,05$) и $1,00 \pm 0,20$ г ($P < 0,01$). При этом у птиц 2-ой группы, вакцинированных против ИББ на фоне микотоксикоза, индекс тимуса был в 2,1 раза достоверно меньше, чем у цыплят 1-ой и 5-ой групп. Сходные изменения отмечены нами при изучении линейных размеров тимуса. Абсолютная масса фабрициевой бursы у вакцинированных птиц 1-ой и 3-й групп составила соответственно $2,36 \pm 0,15$ г и $2,45 \pm 0,09$ г, а у цыплят 2-ой и 4-ой групп - $1,93 \pm 0,18$ г и $1,87 \pm 0,27$ г (в контроле - $2,64 \pm 0,06$ г; $P < 0,05$). В то же время индекс и линейные размеры фабрициевой бursы у интактных и подопытных цыплят изменялись не существенно. Абсолютная масса селезенки у цыплят 3-й и 5-ой групп составила соответственно $1,28 \pm 0,14$ г и $1,43 \pm 0,10$ г, а у птиц 2-ой и 4-ой групп - $1,09 \pm 0,24$ г и $1,17 \pm 0,19$ г (в контроле - $1,50 \pm 0,18$ г; $P > 0,05$). Менее выраженные изменения выявлены нами при изучении индекса и линейных размеров селезенки в этот срок исследований.

На 14-й день после 2-ой иммунизации абсолютная масса тимуса у интактных птиц 5-ой группы составляла $2,60 \pm 0,21$ г, а у подопытных цыплят 1-й, 3-й и 4-й групп - соответственно $2,21 \pm 0,10$ г ($P < 0,05$), $2,07 \pm 0,15$ г ($P > 0,05$) и $1,86 \pm 0,06$ г ($P < 0,05$). У птиц 4-ой группы абсолютная масса тимуса была в 1,3 раза достоверно меньше, чем у цыплят 1-ой группы, вакцинированных на фоне применения токсикомы. Сходные изменения отмечены нами при изучении индекса и линейных размеров данного органа. Абсолютная масса бursы Фабрициуса и селезенки у цыплят 2-ой группы составляла соответственно $2,00 \pm 0,10$ г и $1,14 \pm 0,13$ г, а у птиц 4-ой группы - $2,08 \pm 0,14$ г и $1,22 \pm 0,06$ г (в контроле - $2,48 \pm 0,10$ г и $1,66 \pm 0,15$ г; $P < 0,05$). Органомерические показатели фабрициевой бursы и селезенки у цыплят 1-ой и 3-й групп в этот срок исследований изменялись не достоверно.

Содержание лейкоцитов в крови интактных цыплят 5-ой группы в течение эксперимента колебалось в пределах $25,50 \pm 2,25 \times 10^9$ /л - $31,00 \pm 4,49 \times 10^9$ /л. Скармливание цыплятам корма, контаминированного токсинами грибов, приводило к развитию у цыплят 2-ой группы выраженной лейкопении. Так, в разные сроки исследований содержание лейкоцитов в крови птиц данной группы достоверно снижалось не только по сравнению с контрольными показателями, но и по отношению к показателям в 3-й группе цыплят, вакцинированных против ИББ и получавших хороший корм. Сходные, но менее выраженные изменения отмечались в крови птиц 4-ой группы, иммунизированных против ИББ на фоне хронического микотоксикоза. В то же время скармливание цыплятам 1-ой группы энтеросорбента токсикомы предупреждало развитие у них лейкопении. При изучении содержания тромбоцитов в крови птиц подопытных и контрольной групп выявлены разнонаправленные и не достоверные изменения. Содержание эритроцитов в крови птиц контрольной, 1-ой и 3-й подопытных групп в течение эксперимента различалось не существенно ($2,42 \pm 0,11 \times 10^{12}$ /л - $3,66 \pm 0,53 \times 10^{12}$ /л). В то же время содержание эритроцитов в крови птиц 2-ой и 4-ой групп в разные сроки исследований достоверно снижалось в 1,2-1,6 раза по сравнению с показателями в 1-ой, 3-й и 5-ой группах цыплят. Сходные изменения выявлены нами при изучении концентрации гемоглобина в крови цыплят контрольной и подопытных групп.

Разнонаправленные и не достоверные изменения были установлены нами при изучении показателей неспецифической иммунной реактивности: бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови птиц 1-5-ой групп. Результаты серологического исследования показали, что в разные сроки исследований содержание специфических антител к вирусу ИББ в сыворотке крови (в разведении 1:500) птиц 4-ой и 5-ой групп варьировало в пределах $160,00 \pm 37,64$ - $247,25 \pm 78,09$. На 7-ой день после 1 иммунизации у цыплят 1-3-й групп содержание специфических антител к вирусу ИББ приближалось к контрольным значениям. На 7-ой и 14-й дни после иммунизации у вакцинированных птиц всех групп отмечалось существенное увеличение данного показателя. При этом в сыворотке крови птиц 1-ой и 3-й групп в указанные сроки исследований титры антител к вирусу ИББ находились на уровне $5580,50 \pm 1391,30$ - $6628,50 \pm 558,71$, а у цыплят 2-ой группы - $4480,25 \pm 1781,19$ - $4646,00 \pm 1342,14$ ($P > 0,05$).

Закключение. Скармливание цыплятам корма, контаминированного токсинами грибов (афлатоксин В1, Т-2 токсин, деоксиниваленол, зеараленон, охратоксин, фумонизины), приводит к развитию у цыплят постовариальной гипотрофии, что подтверждается достоверным уменьшением массы тела, выраженной атрофией органов иммунной системы (тимус, фабрициева бурса, селезенка). В крови птиц под влиянием микотоксинов развиваются явления лейкопении и эритропении. Сходные, но более выраженные изменения органомерических и гематологических показателей отмечаются у цыплят, иммунизированных против ИББ на фоне экспериментального хронического сочетанного микотоксикоза. Применение цыплятам энтеросорбента токсикомы профилаксирует явления гипотрофии, в том числе структурные нарушения со стороны иммунокомпетентных органов, нормализует морфологический состав крови. Иммунизация цыплят сухой живой вирус-вакциной против ИББ из штамма «Винтерфильд 2512» на фоне хронического сочетанного микотоксикоза не оказывает существенного влияния на показатели неспецифической иммунной реактивности и напряженность специфического поствакцинального иммунитета.

Литература. 1. Абрамов, С.С. Методические указания по определению естественной резистентности и путях ее повышения у молодняка сельскохозяйственных животных / С.С. Абрамов, А.Ф. Могиленко, А.И. Ятусевич; Витебский вет. ин-т. – Витебск, 1989. – С. 16-20. 2. Болотников, И.А. Гематология птиц / И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев. – Ленинград: Наука, 1980. – 115 с. 3. Брылин, А. Микотоксикозы птиц / А. Брылин // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2009. – №9. – С. 12-13. 4. Диагностика и патоморфологические изменения в крови и органах иммунной системы птиц при инфекционной анемии: рекомендации / И.Н. Громов [и др.] // Витебск: Колицентр-АС-принт, 2013. – 58 с. 5. Дорофеева, С. Микотоксикозы / С. Дорофеева // Птицеводство. – 2003. – № 6. – С. 15-18. 6. Микотоксикозы: значение, диагностика, борьба / В.Н. Афонюшкин [и др.] // Архив ветеринарных наук. – 2005. – Т. 6 (53), Ч. 1. – С. 22-29. 7. Дорофейчук, В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом / В.Г. Дорофейчук // Лабораторное дело, 1963. – №1. – С.15. 8. Папазян, Т. Микотоксины: экономический риск и контроль / Т. Папазян // Животноводство России. – 2002. – №8. – С. 20-21. 9. Препараты для лечения и профилактики субклинических микотоксикозов / Г.А. Красников [и др.] // Ветеринария. – 2002. – №8. – С. 14-17.

Статья передана в печать 26.03.2015 г.

УДК 619:616.995.1:615.2:636.028

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА «ДАРАН» НА ОСНОВЕ ФЛУБЕНДАЗОЛА НА БЕЛЫХ КРЫСАХ

Баран В.И.

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина

Приведены результаты исследований по изучению хронической токсичности антгельминтного препарата «Даран» на белых крысах. Установлено, что независимо от дозы при длительном применении препарат воздействует на функциональную способность печени и иммунные процессы в организме животных.

Findings of investigation of chronic toxicity research of anthelmintic «Daran» on albino rats have been shown in the article. Regardless of doze by long-term administration the anthelmintic attack on liver functionality and immune processes in animals' vivo have been established.

Ключевые слова: хроническая токсичность, белые крысы, антгельминтный препарат «Даран», флубендазол, дегельминтизация, гематологические показатели, биохимические показатели.

Keywords: chronic toxicity, albino rats, anthelmintic «Daran», flubendazole, dehelmintization, haematological parameters, biochemical parameters.

Введение. Паразитарные заболевания животных являются одними из важных факторов, которые сдерживают развитие отраслей животноводства и наносят значительный экономический ущерб. У свиней на откорме, инвазированных гельминтами, снижаются приросты массы тела на 25–40 %, увеличиваются расходы кормов на 35,8 %, а сроки откорма продлеваются на 2,5–3 месяца.

Оптимальным вариантом решения проблемы является проведение лечебных дегельминтизаций одним препаратом, который вызывал гибель гельминтов всех классов [2, 3]. Но большинство антгельминтиков, кроме непосредственного действия на паразитов, оказывают на организм животных токсическое влияние [1]. Следует отметить, что за последние годы эффективность антгельминтиков резко снизилась вследствие развития резистентности паразитов к их действию. Одним из перспективных путей преодоления развития антгельминтной резистентности является создание высокоэффективных, нетоксичных, экологически безопасных отечественных лекарственных форм.

Для организации лечебно-профилактических мероприятий при гельминтозах сельскохозяйственных животных разработан отечественный высокоэффективный антгельминтный препарат «Даран» с действующим веществом – флубендазол.

Препарат «Даран» является антгельминтиком широкого спектра действия, который вызывает гибель всех половозрелых и личиночных форм патогенных нематод, трематод и цестод желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей домашних животных (свиней) и птицы. Активный компонент препарата составляет флубендазол. Флубендазол или метил [5-(4-флуоро-бензоил)-1Н-бензимидазол-2-ил] карбамат является аналогом р-флуоромбендазола [4, 5, 6].

Целью наших исследований было изучение хронической токсичности препарата «Даран» путем выявления степени вредного воздействия при условии длительного введения в организм подопытных животных в разных дозах и изучения влияния на организм крыс.

Материал и методы исследований. Экспериментальные исследования проведены на 45 белых крысах линии Вистар массой $150 \pm 7,52$ г, из которых было сформировано три группы: две опытные и одна контрольная по 15 животных в каждой. Препарат «Даран» вводили внутрь желудка с помощью металлического зонда ежедневно в течение 3-х месяцев животным первой группы в дозе 3,7 мг/кг массы тела по действующему веществу (ДВ), второй – 6 мг/кг по ДВ, контролю вводили 1 % крахмальный клейстер. Объем суспензии крахмального клейстера и препарата «Даран» не превышал $0,5 \text{ см}^3$. Кормление осуществляли полноценным гранулированным комбикормом ПК 121-10. Содержание, уход и методы экспериментальных работ с животными соответствовали соблюдению Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1985).

Степень токсичности оценивали на основании проявления клинических признаков интоксикации. Обращали внимание на поведение, двигательную активность, состояние шерстного покрова, цвет видимых слизистых оболочек, консистенцию фекалий. Также учитывали динамику изменения массы тела, что является важным показателем, который свидетельствует о степени поражения организма.

Через 90 дней от начала проведения опыта животные подвергались эвтаназии при условии слабого эфирного наркоза, отбирали кровь, проводили вскрытие, извлекали сердце, печень, селезенку и определяли коэффициенты массы этих органов и массы тела животных. В крови определяли количество эритроцитов, лейкоцитов, формулу крови, гемоглобина, концентрацию глюкозы. Биохимические исследования базировались на определении содержания общего белка, процента альбуминов, глобулинов, ацетилхолинэстеразы, щелочной фосфатазы (ЩФ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), липидов, холинэстеразы (ХЭ).

Результаты исследований. В результате проведенных исследований установлено, что ежедневное введение препарата «Даран» в дозах 3,7 и 6 мг/кг массы тела по ДВ в течение 90 дней не приводило к гибели животных.

В контрольной группе крыс и у животных, которые получали препарат в дозе 3,7 мг/кг по ДВ в течение периода наблюдения, а в группе опытных животных, которые получали препарат «Даран» в дозе 6 мг/кг на протяжении десяти недель, изменения в поведении не регистрировали, животные были активные, аппетит сохранялся, шерстный покров гладкий, с блестящим оттенком, видимые слизистые оболочки светло-розового цвета, фекалии сформированы соответственно данному виду животных.

В опытной группе животных, где препарат вводили в дозе 6 мг/кг массы тела по ДВ, начиная с 10 недели у 6-ти крыс регистрировали изменения общего состояния: сонливость, опистотонус, розоватые выделения из носовых ходов, бледность видимых слизистых оболочек, повышенное увлажнение шерсти вокруг рта, консистенция фекалий становилась редкой, коричневого цвета с примесью слизи и крови.

При патологоанатомическом вскрытии, проведенном на 90-й день с начала проведения опыта регистрировали кровенаполнение печени, селезенки, почек; легкие кровенаполнены, розовато-красного цвета, местами с точечными кровоизлияниями, сосуды головного мозга, брыжейки, желудка и кишечника – гиперемированы, сердце – кровенаполнено с точечными кровоизлияниями; катаральное воспаление слизистой оболочки кишечника, скопление слизи розоватого цвета.

При внутрижелудочном введении крысам препарата «Даран» в терапевтической дозе 6,0 мг/кг на 90-е сутки средняя масса тела животных была на 14 % ($P < 0,01$) меньше по сравнению с животными контрольной группы (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели массы тела и приростов у белых крыс на 90-е сутки после введения препарата «Даран», г ($M \pm m$, $n=15$)

Группа животных	Масса тела				Прирост массы тела		
	на начало опыта		на 90-е сутки введения		общий за три месяца по группе	среднесуточный в перерасчете на:	
	общая по группе	средняя одного животного	общая по группе	средняя одного животного		всех крыс группы	одну крысу с группы
I	2117	$141,1 \pm 2,57$	2005	$133,6 \pm 3,52$	1579,5	17,55	1,17
II	2168	$144,5 \pm 3,02$	2080	$138,7 \pm 4,17^{**}$	1242,0	13,80	0,92
III-к	1695	$139,3 \pm 3,64$	2158	$143,8 \pm 4,09$	4725,0	52,50	3,50

Примечание: ** – $p < 0,01$

При условии длительного ежедневного введения крысам препарата «Даран» на 90-е сутки, по сравнению с контрольной группой, установлено достоверное снижение коэффициентов массы сердца на 14–15,7 %, селезенки - на 7–13,8 % ($P < 0,05$) при введении препарата в терапевтической дозе 3,7 мг/кг, и на 35 % ($P < 0,001$) при введении препарата в дозе 3,7 мг/кг масса печени была на 2–14 % ($P < 0,05$) меньше, чем при введении препарата в дозе 6,0 мг/кг. Коэффициенты массы органов крыс подопытных и контрольной групп приведены в таблице 2.

Следует отметить, что под воздействием препарата установлена тенденция (независимо от дозы препарата «Даран») к снижению (кроме легких) коэффициентов массы сердца, почек, селезенки и печени.

Одним из важных показателей по исследованию параметров токсикологического профиля препарата являются гематологические показатели.

Таблица 2 – Коэффициенты массы внутренних органов белых крыс на 90-е сутки после введения препарата «Даран», г ($M \pm m$, n=15)

Органы	Группа животных		
	контроль	I	II
Сердце	3,52±0,19	3,03±0,23*	2,97±0,15
Селезёнка	4,0±0,16	3,72±0,14*	3,45±0,12***
Почки (обе)	7,44±0,25	7,15±0,28	6,58±0,20
Почка правая	3,72±0,20	3,57±0,11*	3,43±0,15*
Почка левая	3,72±0,18	3,46±0,22	3,30±0,14
Печень	30,70±1,15	31,35±2,05	35,13±1,40*
Легкие	6,96±0,67	7,12±1,07	7,05±0,62

Примечание: * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,001$

Анализ гематологических показателей крови животных опытных и контрольной групп на 90-е сутки после введения препарата «Даран» представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Гематологические показатели крови белых крыс через 90 дней после введения препарата «Даран» ($M \pm m$, n=15)

Показатели	Группа животных		
	контроль	I	II
Эритроциты, Т/л	6,22±0,54	5,58±0,14*	5,20±0,23*
Лейкоциты, Г/л	11,2±0,61	8,03±1,23*	7,36±0,94*
Гемоглобин, г/л	119,6±0,54	115,3±0,54*	130,7±0,54**

Примечание: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,001$

Анализ гематологических показателей крыс на 90-е сутки после введения препарата «Даран» показал достоверное уменьшение количества эритроцитов на 10,3 % и 16,4 % ($P < 0,05$) и лейкоцитов соответственно на 28,4–34,3 %, при введении препарата в терапевтических дозах (таблица 3).

В опыте установлено увеличение количества гемоглобина у крыс второй группы на 8 % после введения препарата «Даран» в дозе 3,7 мг/кг и уменьшение его количества при введении препарата в дозе 6,0 мг/кг массы тела на 3,6 %.

Анализ лейкоцитарного профиля крыс показал, что при условии длительного введения препарата «Даран» в лейкограмме отмечалась тенденция к достоверному уменьшению по сравнению с контролем, количества эозинофилов - на 44,17–35,85 % (соответственно) ($P < 0,05$) у животных опытных групп (таблица 4).

Таблица 4 – Лейкоцитарная формула крови белых крыс на 90-е сутки после введения препарата «Даран» ($M \pm m$, n=15), %

Группа животных	Эозинофилы	Нейтрофилы		Лимфоциты	Моноциты
		палочко-ядерные	сегментоядерные		
I	1,06±0,41*	0,12±0,15	14,5±2,53*	83,6±3,03*	0,72±0,50*
II	0,86±0,75*	0	17,2±1,46	81,6±1,80*	0,34±0,31*
Контроль	2,40±0,24	0	24,5±5,06	69,3±4,14	3,80±1,30

Примечание: * – $p < 0,05$

Также установлена тенденция к достоверному увеличению количества лимфоцитов и уменьшению количества моноцитов и сегментоядерных гранулоцитов (1 группа) после введения препарата животным в исследованных дозах.

По результатам анализа гематологических и морфологических показателей крови установлена лейкопения вследствие действия препарата «Даран», которая свидетельствует об ингибирующем действии препарата на кроветворные органы и снижении реактивности организма. Так, нейтропения свидетельствует про угнетение функции костного мозга, а уменьшение количества моноцитов, эозинофилов на фоне лейкопении следует считать признаком понижения иммунного состояния организма. О снижении защитных сил организма указывает также выявленный лимфоцитоз на фоне лейкопении и эозинопении и свидетельствует о переходе острого процесса в хронический.

Важными параметрами изучения токсикологического профиля при хроническом эксперименте является исследование белоксинтезирующей функции печени на основании изучения белков сыворотки крови.

В результате проведенных биохимических исследований установлено, достоверное увеличение процента альбуминов на 9,2 % ($P < 0,01$) и 4,6 % ($P < 0,05$) при введении препарата в использованных дозах. Что касается глобулиновых фракций, то установлено достоверное уменьшение количества γ -глобулинов на 6,9 % ($P < 0,05$) и 20,3 % ($P < 0,01$) по сравнению с контролем, при введении препарата соответственно в 3,7 мг/кг и 6,0 мг/кг дозах по ДВ и β -глобулинов на 20,8 % ($P < 0,001$) у крыс II группы, которым вводили препарат «Даран» в дозе 6,0 мг/кг по ДВ.

В результате проведенных биохимических исследований установлено достоверное увеличение процента альбуминов на 9,2 % ($P < 0,01$) и 4,6 % ($P < 0,05$) при введении препарата соответственно в примененных дозах. Что касается глобулиновых фракций, то установлено достоверное уменьшение содержания γ -глобулинов на 6,9 % ($P < 0,05$) и 20,3 % ($P < 0,01$), соответственно контролю, при введении

препарата в дозах 3,7 мг/кг и 6,0 мг/кг по ДВ и β -глобулинов на 20,8 % ($P < 0,001$) у крыс II группы, которым вводили препарат «Даран» в дозе 6,0 мг/кг по ДВ. Уровень α -глобулинов характеризуется общей тенденцией к увеличению во II группе животных, которым вводили препарат в дозе 6,0 мг/кг (в 2,5 раза), а в I группе, которым вводили препарат «Даран», – в дозе 3,7 мг/кг к достоверному уменьшению по сравнению с контролем (в 1,95 раза) (табл. 5).

Таблица 5 – Протеинограмма сыворотки крови белых крыс на 90-е сутки опыта после введения препарата «Даран» ($M \pm m$, $n=15$)

Группа животных	Белковые фракции, %				
	альбумины	глобулины			
		α_1	α_2	β	γ
Контроль	51,9	9,5	8,3	15,9	20,2
I опытная (3,7 мг/кг)	56,7	6,4	12,8	14,8	18,8
II опытная (6,0 мг/кг)	54,3	18,6	21,4	12,6	16,1

Примечание: * – $p < 0,05$; *** – $p < 0,01$ (относительно контроля)

Анализ биохимических показателей крови показал, что в сыворотке опытных крыс, которым препарат «Даран» задавали в дозе 6,0 мг/кг массы тела, по сравнению с данными контрольной группы установлено достоверное снижение уровня общего белка на 11,2 % ($P < 0,05$). При определении протромбинового времени в безтромбоцитарной плазме крови крыс на 90-сутки исследований установлено статистически достоверное его увеличение по сравнению с контролем на 30,8 % и 60,6 %, в первой и второй опытных группах соответственно.

Таблица 6 – Отдельные биохимические показатели крови белых крыс на 90-е сутки опыта после введения препарата «Даран» ($M \pm m$, $n=15$)

Показатели	Группы животных		
	контроль	I опытная (3,7 мг/кг)	II опытная (6,0 мг/кг)
Протромбиновое время, сек	12,23 \pm 2,54	16,00 \pm 1,95**	19,65 \pm 2,69***
Общий белок, г/л	61,8 \pm 1,54	63,6 \pm 1,22	54,9 \pm 1,99*

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$ (относительно контроля)

Таким образом, анализ протеинограммы сыворотки крови крыс опытных групп свидетельствует о нарушениях белоксинтезирующей функции печени, а также может указывать на наличие признаков хронического воспалительного процесса, что также подтверждается достоверными изменениями уровня фракций в протеинограмме.

Последующие научные исследования были направлены на исследования активности ферментов – АсАТ и АлАТ, ЩФ, ХЭ, а также липидов общих, холестерина и глюкозы при введении препарата «Даран».

Следует отметить, что при изучении хронического действия препарата, в процессе которого исследования биохимических показателей является общепринятым методическим принципом, значительное распространение в данное время получило определение активности ферментов, которым характерна органная специфичность. Ферментам принадлежит решающая роль в обеспечении нормального обмена веществ, что в свою очередь имеет важное значение в поддержании гомеостаза. Последние особенно важны и информативны при изучении токсичности веществ, которые избирательно действуют на определенные органы.

Результаты исследования активности ферментов – АсАТ и АлАТ, ЩФ, ХЭ, а также липидов общих, холестерина и глюкозы на 90-е сутки после введения препарата «Даран» представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Биохимические показатели у крыс на 90-е сутки опыта после введения препарата «Даран» ($M \pm m$, $n=15$)

Показатели	Группа животных		
	контроль	I	II
АлАТ, ммоль/час*л	3,62 \pm 0,06	3,59 \pm 0,02	3,66 \pm 0,07
АсАТ, ммоль/час*л	0,69 \pm 0,12	0,72 \pm 0,10	0,68 \pm 0,09
ЩФ, нмоль/с*л	1001,0 \pm 0,07	1341,8 \pm 0,09**	1211,5 \pm 0,12**
Липиды общие, г/л	1,09 \pm 0,16	2,22 \pm 0,12**	1,95 \pm 0,32*
Холестерол, мкмоль/с*л	6,19 \pm 0,44	6,63 \pm 0,59	6,47 \pm 0,56
Глюкоза, ммоль/л	4,15 \pm 0,16	4,68 \pm 0,22*	4,82 \pm 0,11*
ХЭ, мкмоль/с*л	55,70 \pm 1,53	61,24 \pm 1,66*	58,12 \pm 3,09*

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

Одним из наиболее важных показателей углеводного обмена является содержание глюкозы. Достоверно повышенные показатели уровня глюкозы (в 1,13 раза) и общих липидов (в 2,03 и 1,78 раза) в крови животных опытных групп на период восстановления, по сравнению с контрольной группой, свидетельствует о последствии препарата и его влиянии на почки и печень (таблица 7).

Достоверное увеличение активности ХЭ (на 9,9 – 4,3 %) установлено в сыворотке крови крыс на 90-е сутки опыта после использования препарата «Даран».

При проведении исследований установлено достоверное увеличение показателей общих липидов на 33,9 – 20,9 % в сыворотке крови опытных животных по сравнению с контролем. Повышенный уровень общих липидов в крови может указывать на нефротический синдром, который обусловлен уменьшением коллоидно-

осмотического давления плазмы в результате потери белков, при заболеваниях печени, особенно при хроническом гепатите.

Одним из важных тестов, позволяющих объективно оценить функциональное состояние печени и особенно ее билиарную систему, является ЩФ. Этот фермент, непосредственно связанный с мембранными структурами, встречается практически во всех органах и тканях, но в норме в сыворотке крови он представлен, главным образом, изоформами, которые находятся в печени и в костной ткани.

В нашем опыте в сыворотке крови активность ЩФ была на достаточно высоком достоверном уровне по сравнению с показателями контроля на 90-е сутки использования препарата «Даран», что составляло на 34 – 21 % больше по сравнению с контролем.

Следует также отметить, что достоверные изменения биохимических показателей в опыте по отношению к контролю не выходили за пределы величин физиологической нормы. Не выявлено изменений по отношению к контролю в активности трансаминаз и их соотношении, а также повышенное содержание α_2 -глобулинов свидетельствует про отсутствие тяжелых дистрофических процессов в печени. Кроме этого, повышение значения показателей свидетельствует об активации в организме компенсаторных механизмов.

Гематологические и биохимические показатели крови и коэффициенты массы органов на 90-е сутки после того, как крысам вводили препарат «Даран» по отношению к контролю, свидетельствует, что при данных терапевтических дозах в организме животных происходит обновление физиологических функций органов. Оставалось влияние препарата «Даран» на обмен белков (понижение содержания общего белка, уровня γ -глобулинов и повышение альбуминов, β - и α_2 -глобулинов), липидов и углеводов (повышенное содержание общих липидов и глюкозы), на органы кровотока (повышение уровня гемоглобина при дозе 6,0 мг/кг), что свидетельствует о последствии препарата и недостаточного периода времени для обновления функции печени и иммунодепрессантном действии препарата.

Заключение. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что разработанный антгельминтный препарат «Даран» независимо от дозы при длительном применении воздействует на функциональную способность печени и иммунные процессы в организме животных.

Литература. 1. Архипов И.А. Особенности применения и дозирования антгельминтиков на разных видах животных // Тр. Всерос. ин-та гельминтологии. – 2002. – Т. 38. – С. 19–36. 2. Сафиуллин Р.Т. Антгельминтная и экономическая эффективность флубендазола при кишечных нематодозах свиней // Актуал. вопр. инфекц. и инваз. болезней животных. – М. – 1993. – С. 54–58. 3. Насухов Р.М., Кабахова П.М., Смирнова Т.Н. Испытание флубендазола при цестодозах и стронгилятозах овец. Антгельминтная и токсикологическая характеристика // Проф. и лечение бол. с.-х. животных в Дагестане. – 1986. – С. 76–81. 4. Jeoh D. Effect of oral dosing vehicles on the developmental toxicity of flubendazole in rats // *ReprodToxicol.* – 2003. – Jul-Aug. – V. 17(4). – P. 377–385. 5. Marriner S. Effects of toxicological aspects flubendazole in pigs // *Parasit. Res.* – 2004. – Vol. 80. – P. 276–282. 6. Shu-Huai W., De-Lin X. Subchronic toxicity studies of flubendazole in rats // *Veter. Toxicol.* – 2012. – Vol. 56. – № 5. – P. 411–413.

Статья передана в печать 31.03.2015 г.

УДК: 616-002.95-036.22(476)

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЦЕСТОДОЗОВ В БЕЛАРУСИ

Бекиш В.Я., Зорина В.В.

УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь

*В Республике Беларусь гименолепидоз чаще встречается среди городского (0,043 %), чем сельского населения (0,011 %). Пораженность крупного рогатого скота финнами *C. bovis* на основе отчетных данных мясокомбинатов и областных ветеринарных лабораторий составила 0,026 %. При обследовании разных групп населения с учетом профессии оказалось, что заболеваемость тениаринхозом составляет 0,034 % и тениозом – 0,007 %. Дифиллоботриоз встречается с частотой от 0,07 до 0,14 случаев на 100 тыс. населения. Пораженность промежуточных хозяев (рачков *Cyclops sp.*) процеркоидами широкого лентеца в реках Беларуси колеблется от 0,16 до 0,25%. Интенсивность инвазии дополнительных хозяев плероцеркоидами *D. latum* составляет у щук и окуней от 15,6% до 22,2%, а у ершей – от 6,25% до 22,2%. Максимальная пораженность как промежуточных, так и дополнительных хозяев личиночных стадий лентеца широкого отмечено в бассейне реки Днепр.*

*Hymenolepidosis in the Republic of Belarus meets among urban population (0,043 %) more often than among rural (0,011 %). Morbidity of cattle by larvae *C. bovis* on the basis of reports of meat-packing factories and region veterinary laboratories is 0,026 %. During inspection of different groups of population looking at profession was appeared, that morbidity of beef tapeworm is 0,034 % and pork tapeworm – 0,007 %. Fish tapeworm meets with frequency from 0,07 to 0,14 events on 100 thousands of people. Morbidity of intermedial host (crayfish *Cyclops sp.*) of procercoides of fish tapeworm in Belarus rivers is from 0,16 to 0,25%. Intensity of invasion of added hosts by plerocercoides *D. latum* is in pikes and perches from 15,6% to 22,2%, ruffs - from 6,25% to 22,2%. Maximal morbidity of intermedial and added hosts of larval stages of fish tapeworm is in the area of river Dnepr.*

Ключевые слова: эпидемиология, карликовый цепень, тенииды, широкий лентец.

Keywords: epidemiology, dwarf tapeworm, taeniids, fish tapeworm.

Введение. Цестодозы – гельминтозные заболевания, возбудители которых относятся к типу Plathelminthes (Плоские черви), классу Cestoidea или Ленточные черви, два отряда которых (цепни – Cyclophyllidea и лентецы – Pseudophyllidea) имеют медицинское значение и паразитируют в организме человека и млекопитающих. Отряд Cyclophyllidea представлен цестодами, имеющими медицинское значение. В частности, это карликовый (*Hymenolepis nana*), крысиный (*Hymenolepis diminuta*), бычий (*Taeniarhynchus saginatus*), свиной (*Taenia solium*) и тыквовидный (*Dipylidium caninum*) цепни, а также эхинококк (*Echinococcus granulosus*), альвеококк (*Alveococcus multilocularis*) и личинки *Multiceps multiceps*, паразитирующие у человека только на личиночной стадии. Они способны вызывать у человека такие заболевания как гименолепидоз, тениаринхоз, тениоз, цистицеркоз, эхинококкоз, альвеококкоз, ценуроз. Из отряда Pseudophyllidea у человека паразитируют лентец широкий (*Diphyllobotrium latum*) и близкие с ним виды (*D. minus*, *D. strictum* и др.), способные вызвать дифиллоботриоз, а на личиночной стадии – *Spirometra erinacei europei*, вызывающая заболевание спарганоз.

В республике нет руководств по эпидемиологии, клинике, диагностике, лечению и профилактике паразитарных заболеваний человека и, в частности, по цестодозам. В России этой проблеме уделяется должное внимание. В 1994 г. по поручению ВОЗ было переведено и издано международное руководство по лабораторной диагностике паразитарных заболеваний. Под эгидой ВОЗ издано фундаментальное руководство «Клиническая паразитология» под редакцией А.Я. Лысенко [2], а также «Паразитарные болезни человека» под редакцией В.П. Сергиева, Ю.В. Лобзина, С.С. Козлова [4]. Эти руководства и монографии были изданы ограниченным тиражом и в республику не поступали.

В Беларуси в 1960–1966 гг. И.П. Антоновым было проведено изучение клиники, диагностики и лечения цистицеркоза головного мозга человека – тяжелейшего осложнения тениоза [1], а в 1991–1995 гг. Г.Н. Чистенко было изучено распространение цестодозов картографическим методом [5].

Цель исследования – изучить эпидемиологическую ситуацию по гименолепидозу, тениидозам, дифиллоботриозу в Республике Беларусь.

Материал и методы исследований. Работа выполнена в 2006–2012 гг. по теме задания ГНТП 03.05 «Изучить эпидемиологическую ситуацию по цестодозам в отдельных регионах Беларуси, предложить способы их профилактики и лечения» (№ гос. рег. 20063570).

Эпидемиология цестодозов изучалась на основании метода опроса и гельминтологических обследований мужского и женского населения разных профессий и возраста. Сбор данных по пораженности населения цестодами проводили в г. Витебске и Витебской области. Пораженность крупного рогатого скота и свиней цистицерками бычьего и свиного солитеров учитывали на мясокомбинатах республики, в областных ветеринарных лабораториях и в ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр». Сбор данных по пораженности промежуточных (рачки циклопы) и дополнительных (щука, окунь, ёрш) хозяев лентеца широкого в реках Неман, Западная Двина, Днепр и Припять проводили во время экспедиционных выездов.

Диагноз «гименолепидоз» выставлялся на основе обнаружения яиц карликовых цепней в фекалиях, клинических (боли в животе, диспепсические расстройства) обследований и общего анализа крови (лейкоцитоз, эозинофилия). У пациентов с тениидозами диагноз выставлялся на основании опроса, обнаружения проглотид и яиц свиного или бычьего цепней в фекалиях, жалоб (отхождение члеников бычьего цепня при тениаринхозе), клинических симптомов (диспепсические расстройства, зуд в области анального отверстия, боли в правой подвздошной области, потеря массы тела), общего анализа крови (лейкоцитоз, эозинофилия). Диагноз «дифиллоботриоз» выставлялся на основании опроса обследуемых, обнаружения проглотид и яиц широкого лентеца в фекалиях методом Като или Гейна, жалоб (отхождение члеников, стробилы широкого лентеца), клинических симптомов (диспепсические расстройства, боли и шевеление в животе, метеоризм, гиперсаливацию, тошноту, неприятный вкус во рту, неустойчивость стула, снижение или повышение аппетита, аллергические кожные высыпания, потеря массы тела), общего анализа крови (эозинофилия).

Для изучения эпидемиологии цестодозов в Республике было проведено три серии исследований.

В первой серии исследований изучали особенности распространения гименолепидоза у жителей г. Витебска и Витебской области. Учитывалась также выживаемость инвазионных яиц карликового цепня на объектах внешней среды.

Во второй серии исследований изучали особенности эпидемиологии тениидозов в Беларуси, для чего были обследованы работники молочно-товарных ферм, животноводческих комплексов, мясокомбинатов, пищеблоков, столовых, продовольственных магазинов, дети дошкольных учреждений, школьники общеобразовательных учреждений, учащиеся профессиональных технических училищ, студенты. Применялись методы опроса, копрологические методы по Гейну и Като. Учитывали пораженность крупного рогатого скота, свиней цистицерками тениид в Витебской, Гомельской, Гродненской и Могилевской областях и в республике в целом. Проводили обследования каждого очага финноза крупного рогатого скота для выявления источника инвазии. Изучали влияние факторов окружающей среды на выживаемость яиц и цистицерков *T. saginatus* и *T. solium*. Жизнеспособность яиц определяли методом люминесцентной микроскопии. Дифференциация яиц бычьего и свиного солитеров выявлялась дополнительной окраской по Циль-Нильсену.

В третьей серии исследований изучали эпидемиологию дифиллоботриоза на основании гельминтологических обследований мужского и женского населения разных профессий и возраста в г. Витебске и районах области, а так же учитывались отчётные данные республиканской и областных центров гигиены, эпидемиологии и охраны здоровья. Исследования по изучению пораженности промежуточных и дополнительных хозяев личиночными стадиями лентеца широкого проводились во время экспедиционных выездов на реки Неман, Днепр, Западная Двина Республики Беларусь. Материал забирали специальным сачком, вылавливая циклопов у берегов рек. Последних помещали в чашки Петри и с помощью бинокулярного микроскопа МБС-10 подсчитывали количество рачков и среди них процент инвазированных процеркодами. Пойманную рыбу вскрывали и исследовали ее визуально, а также компрессорным методом с помощью

микроскопа на наличие плероцеркоидов. Учитывали индекс обилия (количество паразитов на одного дополнительного хозяина).

Статистическая обработка полученных цифровых данных производилась с использованием программы Excel 2010. Просчитывались средняя арифметическая и стандартное отклонение средней арифметической ($M \pm SD$). Достоверность выявляемых различий определяли по t-критерию Стьюдента. Полученные результаты считались достоверными при $P < 0,01 - 0,05$.

Результаты исследований. При исследовании выживаемости яиц карликового цепня на различных объектах окружающей среды установлено, что они могут выживать на последних и сохранять способность поражать хозяина. Учитывались только яйца с цельными оболочками, у которых медианная пара эмбриональных крючков либо была параллельна латеральным, либо латеральные пары образовывали медиальный угол у основания менее 45° . Установлено, что карликовый цепень поражает преимущественно городское население. Это обусловлено более высокой плотностью населения в городах, наличием большого числа детских учреждений, многонаселенных квартир, домов без канализации и водопровода. Пораженность населения гименолепидозом составила 0,043%.

Яйца тениид обладают высокой устойчивостью к внешним неблагоприятным факторам. При $+5^\circ\text{C}$ жизнеспособность яиц может сохраняться до 60 дней. При $+30^\circ\text{C}$ яйца живут 3-4 дня. При температуре выше $+30^\circ\text{C}$ быстро проявляется процесс старения и гибели яиц, хотя некоторые недоразвившиеся яйца могут достичь инвазионной стадии. При -5°C до 70% яиц остаются жизнеспособными, а при -30°C – только 47% в течение 3 дней. Минусовые температуры не ускоряют процесса старения яиц, но развитие недоразвившихся яиц задерживается. Яйца тениид переносят холодную зиму лучше, чем жаркое лето. Они выживают дольше, когда находятся вне проглоттид. Эпидемиологическое значение имеет высокая устойчивость во внешней среде онкосфер вооруженного и невооруженного цепней. Низкая относительная влажность является доминирующим фактором, влияющим на выживаемость яиц тениид в естественных условиях. Повышенная влажность, наоборот, способствует выживанию яиц в течение одного года и более.

Цистицерки через две-три недели после смерти хозяина погибают. При замораживании мяса до -10°C они разрушаются в течение 15 дней. Цистицерки весьма чувствительны к высоким температурам и быстро погибают при $+80^\circ\text{C}$.

Согласно официальным отчетным данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, заболеваемость тенидозами составляла в последние 10 лет от 0,04 до 0,15 на 100 тыс. населения, в том числе пациентов с тениаринхозом было от 0,05 до 0,10 и тениозом – от 0,03 до 0,07 на 100 тыс. населения. Нами было обследовано 55470 лиц разных профессий на наличие у них цестод. Выявлено 19 инвазированных лиц тениаринхозом, что составило 0,034% от общего числа обследованных и 5 пациентов с тениозом (0,007%). Среди последних 1 был работник столовой, 2 – животноводческих ферм и 2 – студента, родители которых купили финнозную свинину на Ждановичском рынке г. Минска.

По отчетным данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья на мясокомбинатах, убойных пунктах и ветеринарных лабораториях, на рынках в 2001 г. было зарегистрировано только 2 свиные туши, пораженные финнозом, а пациентов с тениозом обнаружено 5 человек. В 2002 г. выявлено 138 туш свиней, пораженных финнозом, а пациентов с тениозом только 2 случая. В 2003 г. обнаружено 2 свиные туши, пораженные финнозом, в 2004 г. – 5, в 2005 г. – 13 туш. Однако в эти три года не был выявлен ни один пациент с тениозом. В 2006 г. финноза среди свиней не было отмечено.

При анализе полученных нами отчетных данных оказалось, что в 2001 г. 84 туши (0,0036%) были поражены цистицерками бычьего цепня, в 2002 г. – 64 (0,0061%), в 2003 г. – 82 (0,0089%), в 2004 г. – 97 (0,0098%), в 2005 г. – 93 туши (0,0095%) и в 2006 г. – только 2 случая финноза крупного рогатого скота. При анализе пораженности крупного рогатого скота по отдельным регионам обращает на себя внимание факт, что в Могилевской области в 2003 г. было выявлено 49 и в 2004 г. – 56 туш крупного рогатого скота, пораженных финнозом, а в Минской в 2005 г. было выявлено 52 туши крупного рогатого скота, пораженного цистицеркозом. Однако ни в 2004, ни в 2005 гг. в этих областях не было выявлено ни одного пациента с тениаринхозом. Наличие пораженности свиней и крупного рогатого скота финнозом при отсутствии источника инвазии – больного человека можно объяснить фактом приема на работу граждан зарубежных стран на короткий период (май-сентябрь), не имеющих медицинских книжек.

При изучении отчетных данных с мясокомбинатов и областных ветеринарных лабораторий Витебской и Гомельской областей с января 2006 г. по май 2007 г. было установлено 36 случаев финноза крупного рогатого скота. Пораженность крупного рогатого скота в Витебской области при обследовании 68420 туш составила 0,015% и в Гомельской (70867 туш) – 0,037%. А средний показатель по республике составил 0,026%. Из этих фактов следует, что отчетные данные Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья и Белорусского Государственного Ветеринарного Центра не отражают истинного заражения животных финнозом.

При изучении распространенности дифиллоботриоза среди населения Витебской области нами были обследованы работники рыбоперерабатывающих предприятий, пищеблоков, столовых, продовольственных магазинов, молочно-товарных ферм, животноводческих комплексов, мясокомбинатов, дети дошкольных и школьные общеобразовательных учреждений, учащиеся профтехучилищ, студенты. В течение 2006–2008 гг. было обследовано 75840 человек на наличие дифиллоботриоза. Выявлено 27 пациентов, среди них мужчин 13, женщин – 14. Инвазированные распределились: 10 человек в возрасте 19–30 лет, 6 – в возрасте 40–50 лет и 11 были в возрасте 51–65 лет. По профессии было: рабочих – 5, с высшим образованием – 10 человек, студентов – 4, домохозяйки – 2 человека и пенсионеров – 4 человека. Из этих данных можно сделать вывод об отсутствии связи между полом, возрастом, образованием, профессией и инвазированностью широким лентецом. Пораженность населения дифиллоботриозом колебалась от 0,07 до 0,14 на 100 тыс. населения в 2001–2007 гг., которая совпадает с данными Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья.

Изучение пораженности промежуточных и дополнительных хозяев лентеца широкого проводили во время экспедиционных выездов в реках Неман (деревни Морино, Кривичи, Николаево Ивьевского района Гродненской области), Западная Двина (города Полоцк, Новополоцк, д. Мильковичи Бешенковичского и д. Язвино Витебского районов), Сож (города Гомель, Ветка), Припять (д. Лужевичи Мозырьского района Гомельской области) и Днепр (г. Дубровно Витебской области).

В реке Неман пораженность циклопов составляла от 0,15% до 0,27%. В обследованных населенных пунктах была изучена пораженность промежуточных хозяев в зависимости от места забора материала (на один километр выше населенного пункта, в деревне и на один километр ниже). Пораженность циклопов, собранных на один километр выше населенного пункта, колебалась от 0,14 до 0,15%, при заборе материалов в населенном пункте – от 0,25 до 0,32% и при заборе ниже на один километр расположения населенного пункта – от 0,14% до 0,16% при средней величине пораженности 0,19%. При изучении инвазивности дополнительных хозяев оказалось, что щуки были поражены в среднем 4,41%. При заборе материала на 1 км. выше населённого пункта в районе д. Морино пораженность щук составила 4,76%, в д. Кривичи – 4,34% и в д. Николаево – 4,16%. Средний показатель инвазивности окуней в районе расположения деревней составил 3,66%. Самый высокий показатель инвазивности окуней оказался в д. Николаево (3,84%) и чуть ниже в деревнях Морино и Кривичи (3,57%). Инвазивность ершей в среднем составила для трёх деревней 3,61%. Её разброс колебался от 3,70% в д.Морино до 3,57% в деревнях Кривичи и Николаево.

В реке Западная Двина инвазивность промежуточных хозяев (циклопов) в районе городов Полоцк, Новополоцк составила 0,16%, а в деревнях Мильковичи – 0,16% и Язвино – 0,17%. Пораженность дополнительного хозяина (щука) в г. Полоцке достигала 3,70% в г. Новополоцке – 4,0%, в д. Мильковичи – 3,33% и в д. Язвино – 2,85%, а средний показатель составил 3,42%. Инвазивность окуней оказалась самой низкой в деревнях Мильковичи и Язвино (3,12%), в г. Полоцке – 3,45% и в г. Новополоцке – 3,57% при средней пораженности – 3,30%. Пораженность ершей оказалась самой низкой (2,85%) в д. Язвино, чуть выше в г. Полоцке (2,94%) и г. Новополоцке (3,12%). Самый высокий показатель инвазивности ершей (3,33%) отмечен был в д. Мильковичи.

Были обследованы промежуточные и дополнительные хозяева в реке Днепр (г. Дубровно) и её притоков – Сож (города Ветка, Гомель) и Припять (д. Лужевичи Мозырьского р-на). Оказалось, что циклопы инвазивны процеркоидами в г. Дубровно и г. Гомеле в 0,25%, в д. Лужевичи – в 0,24% и в г. Ветка – в 0,17%. Щуки как дополнительные хозяева были поражены плероцеркоидами от 5,26% до 5,71%, окуни – от 5,0% до 5,55% и ерши – от 4,34% до 4,41%.

Наши данные совпадают с результатами наблюдений других авторов [3], которые подтверждают, что щуки как крупные хищные рыбы поражены более интенсивно, чем окуни и ерши. Этот факт можно объяснить тем, что крупные рыбы инвазивны значительно большим числом плероцеркоидов, чем молодые экземпляры, хотя первые уже не питаются планктоном, одним из элементов которого являются рачки. Абсолютное число плероцеркоидов у взрослых щук значительно больше, чем у молодых. У последних их значительно больше на одну и ту же единицу веса, щука сильнее заражена плероцеркоидами лентеца широкого.

Щука, пораженная плероцеркоидами, чаще употребляется в пищу человеком и имеет ведущее эпидемиологическое значение. Интенсивная инвазия щук личинками *D. latum* объясняется способностью плероцеркоидов мигрировать из одной рыбы в другую и накапливаться в организме хищных рыб. Об этом свидетельствуют и данные по изучению индекса обилия паразитов в дополнительном хозяине. Оказалось, что этот показатель равнялся 0,07 в реке Западная Двина, в реке Неман – 0,09 и в бассейне реки Днепр – 0,11. Пораженность промежуточных хозяев (рачков *Cyclops* sp.) процеркоидами лентеца широкого в реках Беларуси колеблется от 0,16 до 0,25%. Интенсивность инвазии дополнительных хозяев плероцеркоидами *D. latum* составляет у щук и окуней от 15,6% до 22,2%, а у ершей – от 6,25% до 22,2%. Максимальная пораженность как промежуточных, так и дополнительных хозяев личиночных стадий лентеца широкого отмечена в бассейне реки Днепр. В реках Беларуси имеются все предпосылки для формирования потенциальных очагов дифиллоботриозной инвазии.

Эпидемиологические наблюдения позволяют считать факторами передачи плероцеркоидов лентеца широкого за счет употребления в пищу слабосоленой, плохо провяленной рыбы, сырого рыбного фарша или слабосоленой щуцней икры. Последняя имеет важное эпидемиологическое значение в очагах дифиллоботриоза. На сегодняшний день важным фактором инвазии человека плероцеркоидами *D. latum* следует считать увеличение потребности в вяленой рыбе в связи с широкой рекламой пива.

Заключение. Источником гименолепидоза является карликовый цепень, включая мышиную и крысиную популяцию. Основной путь заражения человека карликовым цепнем происходит через рот при заглатывании инвазионных яиц. Передача яиц карликового цепня может осуществляться путем непосредственного контакта между инвазированным (донор) и реципиентом, а также путем опосредованного контакта через различные предметы внешней среды, алиментарным, водным и аэрогенным путями. Гименолепидоз чаще встречается среди городского (0,043 %), чем сельского населения (0,011 %). Особенности эпидемиологии тениидозов определяются температурным режимом, влажностью в момент пребывания яиц и онкосфер во внешней среде. Высокие температуры вызывают в значительном большинстве случаев гибель инвазионных яиц и онкосфер свиного и бычьего солитеров, чем низкие, в результате чего выживаемость онкосфер оказывается выше после воздействия низкими температурами. На выживаемость онкосфер оказывает негативное влияние сохранение яиц в проглотиде при воздействии климатических факторов. Сезонные особенности осенне-зимнего периода оказывает больший эффект на выживаемость онкосфер, чем весенне-летнего. Пораженность крупного рогатого скота финнами *S. bovis* на основе отчетных данных мясокомбинатов и областных ветеринарных лабораторий составила 0,026 %. При обследовании разных групп населения с учетом профессии оказалось, что заболеваемость тениаринхозом составляет 0,034 % и тениозом – 0,007 %. Дифиллоботриоз встречается среди населения республики с частотой от 0,07 до 0,14 случаев на 100 тыс. населения. Пораженность промежуточных хозяев (рачков *Cyclops* sp.) процеркоидами лентеца широкого в

реках Беларуси колеблется от 0,16 до 0,25%. Интенсивность инвазии плероцеркоидами широкого лентеца у щук и окуней составляет 15,6-22,2%, а у ершей – 6,25%-22,2%. В бассейне реки Днепр наблюдается максимальная пораженность промежуточных и дополнительных хозяев лентеца широкого.

На основании проведенных исследований нами разработаны и утверждены Министерством здравоохранения инструкция по применению «Профилактика цестодозов человека» (Утв. МЗ РБ 13.11.2008 г., Рег. № 099-1008), которая используются в последние годы более чем в 40 медицинских учреждениях районного и областного уровней Витебской, Гродненской, Брестской, Гомельской, Могилевской и Минской областей.

Литература. 1. Антонов И.П. Цистицеркоз головного мозга (Клиника, диагностика, лечение). Докт. дисс. – Минск. – 1966. – 278 с. 2. Клиническая паразитология. Под ред. А.Я. Лысенко // Женева, ВОЗ.- 2002. – 734 с. 3. Клебановский В.А. Дифиллоботриозы. – Гельминтозы человека / Под ред. Ф.Ф. Сопрунова. – М., Медицина. – 1985. – С.164–178. 4. Паразитарные болезни человека. Под ред. В.П. Сергеева, Ю.В. Лобзина, С.С. Козлова. – Сп.Б, Фолиант. – 2008. – 586 с. 5. Чистенко Г.Н. Эпидемиологические аспекты паразитарных болезней в Беларуси. Докт. дисс. – Минск. – 1995. – 295 с.

Статья передана в печать 27.04.2015 г.

УДК 619:636.32/.39:616.995.751.3

РАСПРОСТРАНЕНИЕ *MELOPHAGUS OVINUS* (DIPTERA: HIPPOBOSCIDAE) И БОРЬБА С НЕЙ В НЕБЛАГОПОЛУЧНОМ ХОЗЯЙСТВЕ

Бырка В.И., Мазанный А.В.

Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина

Изложены материалы исследований по вопросам распространения, течения и клинического проявления мелофагоза у коз и овец в условиях их совместного зимне-стойлового содержания. Эффективность некоторых инсектицидов в борьбе с болезнью.

Data about distribution and clinical manifestations of goats and sheep melofagosis in the condition of joint contents of their winter stabling. The efficiency of some insecticides to fight the disease was established.

Ключевые слова: козы, овцы, мелофагусы, экстенсивность и интенсивность инвазии, лечение, байофлай Пур-он, дектомакс, экстенс- и интенсэфективность, пути профилактики.

Keywords: goats, sheep, melofagus, extensiveness and intensiveness of invasion, treatment, bayoflay Pur-on, dextomax, extensefficiency and intensefficiency, ways of prevention.

Введение. Многочисленных эктопаразитов млекопитающих и птиц – кровососок отнесено к кулпородным насекомым подотряда *Pupipara*. Достаточно распространенными в Украине и в РФ считаются кровососки овечья и лошадиная [1, 2, 5, 6, 8, 13, 14]. Значительный вред они наносят овцам, у которых вызывают рунцовую болезнь или мелофагоз [3, 7, 9, 12, 13]. В частности, установлено, что при интенсивном поражении (сотни паразитов) снижение массы тела может достигать 8–10 кг, настриг шерсти уменьшается на 0,8–1,0 кг с овцы, ухудшается ее качество, поскольку она сваливается, загрязняется экскрементами, телами насекомых и их пупариями. Шерсть принимает серо-зеленый цвет, становится не кондиционной [5, 12, 13].

Проведению нижеисследующих исследований послужило быстро прогрессирующее распространение инвазии среди овец и коз при совместном их содержании в одной из ранее благополучных ферм Харьковской области, что привело к ощутимому ущербу хозяйству.

Основные задачи исследования: анализ эпизоотической ситуации в неблагополучном по мелофагозу мелкого рогатого скота хозяйстве, клиническое проявление болезни, установление экспериментальным путем приемлемого для оздоровления фермы энтомоцида и разработка для условий Востока Украины комплекса мер профилактики и борьбы с данной инвазией при совместном содержании коз и овец.

Материал и методы исследований. Материалом для исследований послужил разного возраста мелкий рогатый скот в количестве 68 коз и 104 овцы.

Наблюдения и исследования проведены в неблагополучной ферме в условиях зимне-стойлового совместного содержания этих животных и научной лаборатории кафедры паразитологии ХГЗВА.

При изучении особенностей эпизоотической ситуации, сложившейся в хозяйстве, особое внимание уделено изучению основных звеньев эпизоотического процесса в развитии мелофагозной инвазии, в частности, установлению источников инвазии, динамики инвазионного процесса, установлению качественных и количественных показателей инвазии и факторов, которые способствовали ее распространению. Идентифицировали эктопаразита по определителю насекомых Г.Я. Бей-Биенко, предложенного для восточноевропейской зоны [4].

Клиническое проявление мелофагоза у коз и овец устанавливали общепринятыми в ветеринарной медицине методами и приемами [10]. Уделено было внимание общему состоянию животных, их поведению, упитанности, состоянию слизистых оболочек и волосаного покрова различных участков кожи с целью выявления паразитических членистоногих. Тело животного обследовали путем послойного разворачивания и визуального осмотра руна. Отлавливали насекомых с помощью пальцев и анатомического пинцета. Применены для вычесывания эктопаразитов также гребни с 2 мм плотностью зубьев, и 10-ти сантиметровой захвата шириной. От каждого животного членистоногих собирали в отдельную этикетированную, с ватной

пробкой пробирку. В лаборатории в пробирки приливали по 5 мл жидкости Барбагалло и через час подсчитывали количество имаго и куколок, определяли видовую и половую принадлежность паразитов.

Установление эффективности инсектицидов из числа разрешенных в Украине проведено нами в сравнительном аспекте на спонтанно инвазированном кровососками поголовье мелкого рогатого скота, для чего в феврале 2013 года сформировали две опытные и контрольную группы. В эксперименте исследовано различной химической природы два энтомоцида – байофлай Пур-он («Bayer HealthCare AG», Германия) и дектомакс («Pfizer», Бразилия) [11].

Результаты исследований. Неблагополучная животноводческая ферма расположена в северо-западной части лесостепной зоны Харьковской области, в 8 км на северо-запад от г. Харькова и 6 км южнее районного центра – города Дергачи, в поселке Малая Даниловка.

Природно-климатические условия региона, в котором находится хозяйство, характеризуются умеренно континентальным климатом, способствующим ведению эффективного сельскохозяйственного производства. Общая земельная площадь его в 2012 году составила 2062 га, из них под пашню отведено около 1,5 тыс. га, под пастбищами находится 200 га приречной поймы.

Анализ движения поголовья сельскохозяйственных животных за последние годы показал медленное наращивание поголовья крупного и мелкого рогатого скота. В 2012 году поголовье мелкого рогатого скота было пополнено молодняком зааненской молочной породы коз (50 гол.), которые в начале лета поступили в хозяйство и в течение теплого периода удерживались на территории животноводческого комплекса отдельно в загонах с теньевыми навесами.

В первые двое суток их было обследовано копроскопически. Инвазированных гельминтами не обнаружено. Между тем, обследование на поражение их эктопаразитами не проводилось, поскольку клинического проявления эктопаразитозов при наблюдении не заметили. В ноябре их присоединили к основному стаду фермы мелкого рогатого скота.

Признаки кожного зуда у животных фермы заметили в феврале следующего года. В связи с этим провели выборочное клинико-паразитологическое обследование этого поголовья и обнаружили членистоногих класса *Insecta*. По результатам морфологического анализа выявленных эктопаразитов отнесли к насекомым вида *Melophagus ovinus* (Linnaeus, 1758). Был поставлен диагноз – мелофагоз.

Для установления степени распространения инвазии провели обследование кожного покрова животных неблагополучного стада и ручной сбор насекомых. Результаты обследования представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Распространение мелофагоза среди коз и овец фермы (февраль, 2013 г.) (M±m)

Вид животных	Возрастные группы	Обследовано	Обнаружено инвазированных	ЭИ, %	ИИ, экз.
		животных			
Козы	взрослые	13	3	23,1	9,0±6,0
	молодняк	13	7	53,8	27,0±3,8
	<i>всего</i>	26	10	38,5	21,6±4,1
Овцы	взрослые	13	5	38,5	76,0±15,6
	молодняк	13	12	92,3	136,0±14,1
	<i>всего</i>	26	17	65,4	118,4±12,7
<i>Всего</i>	взрослые	26	8	30,8	50,9±15,5
	молодняк	26	19	73,1	95,8±15,2
	<i>всего</i>	52	27	51,9	82,5±12,2

По результатам клинико-паразитологического обследования (таблица 1) установлено, что после 4-месячного совместного пребывания в условиях стойлового содержания местных овец и коз с завезенным из неблагополучного хозяйства молодняком коз, экстенсивность мелофагозной инвазии на ферме достигла 51,9 % при ее интенсивности 82,5±12,2 экз. на животном. При этом пораженность коз составила 38,5 % с ИИ 21,6±4,1 экз. на животном, что оказалось ниже этих показателей по ферме. ЭИ взрослых коз составила 23,1 % при ИИ 9,0±6,0 экз., в то время как у молодняка этот показатель оказался более чем в два раза выше – 53,8 % при ИИ 27,0±3,8 экз. на животном.

Экстенсивность мелофагозной инвазии у овец составила 65,4 %, что на 26,9 % превысило этот показатель у коз. При этом достаточно заметно возросла и ИИ: она составила 118,4±12,7 экз. на животном. ЭИ взрослых овец составила 38,5 %, молодняка – 92,3 %. У обоих видов животных при увеличении ЭИ наблюдали пропорциональный рост интенсивности инвазирования животных.

Полученных нами данных достаточно для обобщения, что все возрастные и технологические группы овец и коз при совместном содержании подвержены заражению кровососками. Разница заключалась лишь в показателях экстенсивности и интенсивности инвазирования мелофагусами. Особо существенные различия отмечены в инвазировании коз и овец: ЭИ мелофагусами овец оказалась больше на 26,9 %, а ИИ – в 5,5 раза.

Таким образом, овцы, при равных условиях содержания и кормления, оказались более комфортными хозяевами для размножения возбудителя мелофагоза.

Итак, совместное содержание в течение 4-х месяцев инвазированного мелофагусами молодняка коз с овцами и козами, которые там жили ранее, в зимне-стойловый период сопровождалось быстрым распространением инвазии, что и привело к вспышке болезни. Поскольку срок выживания мелофагусов вне тела хозяина без еды ограничен и, в зависимости от времени года, не превышает 7 суток, то их накопление и циркуляция происходят фактически на теле мелкого рогатого скота. Мелофагусы расселяются преимущественно при непосредственном контакте инвазированных животных со здоровыми. Заражение молодняка происходит от инвазированных матерей уже в подсосный период. Достаточно тесно контактируют

инвазированные животные со здоровыми во время кормления, несколько меньше – во время отдыха. Не исключаем возможность их инвазирования и через окружающую среду.

Быстрому перезаражению животных на ферме хозяйства способствовали оптимальная температура и повышенная влажность в помещении, отсутствие солнечной инсоляции, ухудшение витаминного и минерального обеспечения и, в частности, отрастание и уплотнение в этот период волосяного покрова на животных.

В условиях зимне-стойлового содержания у коз мелофагусов обнаруживали преимущественно в волосяном покрове шеи, на коже плечевого пояса, а также на боках туловища и брюха, у овец – на коже груди, туловища и брюха.

Установлено, что клиническое проявление мелофагоза зависело, в первую очередь, от интенсивности инвазирования животных. Молодняк первых месяцев жизни из-за короткого волосяного покрова оставался свободным от кровососок и только в 3–4-месячном возрасте регистрировали признаки инвазирования этими зоопаразитами. При интенсивности инвазирования животных в пределах 2–4 экз. на 100 см² появляются первые, незначительные, с длительными интервалами приступы зуда. Увеличение интенсивности инвазирования до 5–8 экз. на 100 см² поверхности тела у коз и овец сопровождалось постоянным зудом. На боках появлялись участки сваливания руна у овец, облысения и воспаление кожи. У животных при паразитировании 10–12 и более паразитов на 100 см² (рисунок) отмечали исхудание, анемию, отставание в росте молодняка, дерматит, облысение отдельных участков кожи, почти постоянный интенсивный зуд. Почесывание кожи временно прекращалось лишь во время приема корма. Соотношение самцов и самок кровососок зимой на теле коз и овец находилось в пределах 1 : 3.



Рис 1. Мелофагусы (имаго и куколки) в руне овцы

Диагностика данной инвазии не является сложной, поскольку особенности клинического проявления инвазии достаточно специфические, а при обследовании тела животного в прикорневой части руна, на коже шеи, туловища невооруженным глазом обнаруживали больших (4–7 мм), коричневого цвета, быстро передвигающихся эктопаразитов и их темно-красного цвета куколок. По размеру, форме и строению мелофагусов дифференцировали от вшей, власоедов и т.п.

С целью установления фактической эффективности при данном заболевании мелкого рогатого скота нами в сравнительном аспекте были экспериментально исследованы два различной химической природы инсектицидных препарата – байофлай Пур-он и дектомакс. Руководствовались при этом исследованием соответствующими инструкциями. После их применения в течение 3-х суток контролировали общее состояние подопытных животных, прием корма и воды, частоту дефекации и мочеиспускания, подсчитывали количество живых и мертвых эктопаразитов. В опытные группы отобрали по 10 разного возраста, с разной степенью ИИ коз и овец. В группу не леченого контроля отобрали пять инвазированных коз и столько же овец. Содержали группы изолированно. Результаты этого исследования коз представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Эффективность инсектицидов при мелофагозе коз (n=25)

Опытные группы	Животных в группе	Инсектицид, доза на 10 кг м. ж.	Насекомые погибли через:	ЭЭ, %
1	10	дектомакс, 0,2 мл	1,5 суток	100
2	10	байофлай Пур-он, 1 мл	1,0 сутки	100
Контроль	5	не лечили	ИИ возросла на 11 %	–

Через 1,5 суток после применения инсектицидов на теле леченных животных живых эктопаразитов не обнаружили. Поскольку инсектициды не действуют на куколок паразита и через 25–27 суток из них должны появиться молодые рунцы, то наблюдение продолжили до конца месяца.

Результаты эксперимента у инвазированных мелофагусами овец представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Эффективность инсектицидов при мелофагозе овец (n=25)

Опытные группы	Животных в группе	Инсектицид, доза на 10 кг м. ж.	Насекомые погибли через:	ЭЭ, %
1	10	дектомакс, 0,2 мл	1,5 суток	100
2	10	байофлай Пур-он, 1 мл	1,0 сутки	100
Контроль	5	не лечили	ИИ возросла на 16 %	–

Таким образом, экстенсивность (ЭЭ) исследуемых препаратов при лечении больных мелофагозом коз и овец была 100 %-й. Побочного действия от применяемых инсектицидов у подопытных животных нами не установлено. При однократном применении животным второй опытной группы байофлай Пур-она насекомые начали погибать уже через 3 часа и на конец первых суток имагинальные стадии мелофагусов не подавали признаков жизни. Несколько больший срок инсектицидного действия (1,5 суток) понадобился при применении дектомакса.

В группе контроля за период эксперимента наблюдали постепенный рост интенсивности мелофагозной инвазии – на 11 % у коз и 16 % – у овец.

Обследованием животных, проведенным через месяц, живых молодых рунцов нами не обнаружено, что указывает на длительное пролонгированное действие обоих энтомоцидов.

Неблагополучное поголовье фермы было подвергнуто лечебной обработке дектомаксом, которому, в связи с его одновременным гелминтоцидным действием, было отдано предпочтение. Благодаря пролонгированному действию препарата дезинсекцию помещения не проводили, что позволило сократить финансовые расходы и затраты труда.

Ряд дополнительных мер при оздоровлении неблагополучных ферм мелкого рогатого скота и профилактики мелофагозной инвазии предлагаем направить на:

- улучшение условий содержания и кормления животных;
- регулярное проведение моциона в условиях зимне-стойлового содержания животных;
- периодический контроль полноценности и сбалансированности кормового рациона животных фермы;
- недопущение переуплотненной постановки животных;
- контроль санитарного состояния помещения, спецодежды и обуви обслуживающего персонала, содержание их в надлежащем санитарном состоянии;
- недопущение попадания в помещения посторонних людей и животных;
- регулярное проведение борьбы с грызунами и насекомыми;
- 30-суточное карантинирование приобретенных животных и их тщательное обследование;
- лечение дектомаксом или байофлай Пур-оном всей группы животных при выявлении единичных случаев инвазирования эктопаразитами;
- запрет перемещения животных до оздоровления фермы;
- проведение оздоровительных мероприятий при вспышках инвазии: животных старшего возраста подвергнуть лечению байофлай Пур-оном в расчете 3–5 мл в зависимости от массы животного методом поливания вдоль позвоночника, одноразовую обработку молодняка дектомаксом;
- еженедельную дезинвазию предметов ухода за животными, спецодежды и обуви обслуживающего персонала.

Ветеринарному персоналу хозяйства особое внимание предлагается уделять поголовью скота в течение первого месяца содержания после постановки на стойло и при выявлении единичных случаев инвазирования кожными экто- или эндопаразитами провести лечебно-профилактическую обработку в ноябре и этим мероприятием не допустить снижения продуктивности животными в стойловый период.

Исходя из наших данных и данных других исследователей установлено, что на ЭИ и ИИ мелофагусами непосредственно влияют: возраст животного, его физиологическое состояние, температура и влажность окружающей среды и, в частности, в помещении, наличие и интенсивность солнечной радиации, моцион и продолжительность светового дня, некоторые другие [12].

Установлено, что полный оздоровительный эффект исследованными инсектицидами достигается в результате локально ограниченного однократного нанесения на сухую кожу вдоль позвоночника большого животного байофлай Пур-она или подкожного введения в области шеи в объеме 2–5 мл, в зависимости от массы и возраста животного, дектомакса.

Заключение. 1. Вспышка массового энтомозного дерматита на ферме при совместном содержании коз и овец была вызвана овечьей кровосоской вида *Melophagus ovinus*: ЭИ в конце зимы составила 51,9 % при ИИ – 82,5±12,2 экз. на животном.

2. Мелофагоз констатирован у 38,5 % коз при ИИ – 21,6±4,1 экз. и у 65,4 % овец при ИИ – 118,4±12,7 экз./жив., то есть, при одинаковых условиях овцы, по сравнению с козами, остаются для кровососок в эколого-биологическом отношении более комфортным хозяином.

3. Экстенсивность инвазирования мелофагусами отличалась в зависимости от возраста животных и составила у взрослых коз 23,1 %, у молодняка – 53,8 %, у овец соответственно 38,5 % и 92,3 %, то есть, молодняк, по сравнению со взрослыми животными, поражается чаще и интенсивнее. С изменением ЭИ закономерно и пропорционально изменялись и показатели ИИ.

4. Локализация рунца в условиях зимне-стойлового содержания (срок наблюдения) у коз и овец была почти одинаковой (шея, туловище) и лишь весьма заметно отличались показатели экстенсивности и интенсивности инвазирования этих животных.

5. Клиническое проявление мелофагоза зависело от степени инвазирования животных: при низкой оно слабо выражено, при средней проявлялось зудом, алопецией отдельных участков тела, почти постоянным беспокойством, а при высокой – угнетением, исхуданием, отставанием в росте и развитии молодняка, дерматитом и снижением массы тела больными животными.

6. Исследованные нами в эксперименте дектомакс и байофлай Пур-он в рекомендованных фирмами-производителями дозах проявили при мелофагозе мелкого рогатого скота полный оздоровительный эффект после однократного их применения.

Литература. 1. Аббасов Т.Г. Препараты из группы пиретроидов для борьбы с эктопаразитами животных / Т.Г. Аббасов, В.А. Поляков // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии / Всерос. НИИ вет. санитарии, гигиены и экологии. – М., 2004. – Т. 116. – С. 103–113. 2. Абрамов И.В. Мелофагоз. В кн.: Болезни овец и коз / составитель М.В. Загороднов. – М.: Колос, 1973. – С. 323–324. 3. Андреев К.П. Ветеринарная энтомология и дезинсекция / К.П. Андреев. – М.:

Колос, 1966. – С. 231–234. 4. Бей-Биенко Г.Я. *Определитель насекомых европейской части СССР* / Г.Я. Бей-Биенко. – Л., 1970. – С. 5. 5. *Болезни овец и коз* / Под ред. П.М. Диренко. – К.: Урожай, 1983. – 104 с. 6. Бырка В.И. *Мелософаоз* / Справочник по болезням жвачных. Под ред. проф. В.К. Чернухи. – К.: Урожай, 1987. – С. 155–156. 7. Вербицкая Л.А. *Паразитоценозы овец и меры борьбы с ними* / Л.А. Вербицкая // III науч.-практ. конф. Междунар. ассоциации паразитологов, 14-17 окт. 2008 г.: материалы. – Витебск: ВГАВМ, 2008. – С. 35–37. 8. *Довідник лікаря ветеринарної медицини* / [Вербицький П.І., Достоевський П.П., Бусол В.О. та ін.]; за ред. П.І. Вербицького, П.П. Достоевського. – К.: Урожай, 2004. – С. 393–395. 9. *Домацкая М.Д. Экстенсивность и интенсивность поражения овец кровососками в Тюменской области.* – В кн.: *Вопросы ветеринарной арахно-энтомологии*, 1974. – Вып. 6. – С. 42–44. 10. *Клінічна діагностика внутрішніх хвороб тварин* / [Левченко В.І., Кондрахін І.П., Влізло В.В. та ін.]; за ред. В.І. Левченка. – Біла Церква, 2004. – 608 с. 11. *Макролідні препарати – надійний захист худоби від гіподерматозу* / В.Ф. Галат, А.В. Березовський, К.В. Дідаш [та ін.] // *Науковий вісник НАУ.* – К., 2001. – № 38. – С. 113–116. 12. *Мединский Б.Л. Влияние мелософаозной инвазии на шерстную продуктивность овец* / Б.Л. Мединский // *Уч. записки Каз. вет. ин-та.* – Казань, 1977. – Т. 127. – С. 32–33. 13. *Мишунов И.М. Распространение и ущерб, наносимый мелософаозом овцеводству Читинской области.* – В кн.: *Вет. энтомология и акарология.* – М., 1983. – С. 182–185. 14. *Паразитология та інвазійні хвороби тварин: [практикум]* / В.Ф. Галат, А.В. Березовський, М.П. Прус, Н.М. Сорока; за ред. В.Ф. Галата. – К.: Вища освіта, 2004. – С. 134–135.

Статья передана в печать 28.04.2015 г.

УДК: 619:579.873.21

ІЗМЕНЧИВОСТЬ МИКОБАКТЕРИЙ В ПОВЫШЕНИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЁЗА

Ван Хунлянь

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

Инкубирование штаммов микобактерий в стимуляторах роста ВКГ и Микофаст, вызывает частичную потерю кислотоустойчивости клеток и придаёт способность к быстрому росту на этих питательных средах. У микобактерий происходят существенные изменения в клеточной стенке, в виде трансформации до CWDF МБТ, которые окрашиваются иммунопероксидазным методом

Incubation of strains of micobacteria in VKG and Mikofast growth stimulators, causing partial loss of acid resistance of the cells and gives ability to fast growth on this nutrient substances. Micobacteria changes their cellular wall like transformation before CWDF MBT stage, which painted by immunoperoxidase method.

Ключевые слова: туберкулёз, микобактерии, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, дифференциальная окраска, иммунопероксидазная окраска.

Keywords: tuberculosis, mycobacteria, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, differential staining, immunoperoxidase stain

Введение. Существующая бактериологическая диагностика туберкулёза направлена на обнаружение типичных кислотоустойчивых патогенных микобактерий и практически не учитывает плеоморфизм и изменчивость микобактерий туберкулёза, что существенно ограничивает возможности выявления туберкулёзной инфекции [2, 4].

Плеоморфизм микобактерий туберкулёза обнаружили в 1883 году F. Mallassez и W. Vignal [5], которые нашли в поражениях кожи неокислостойчивые коккоиды, превращавшиеся в кислотоустойчивые палочки при пассаже на животных. Nocard и Roux (1887) описали ветвящиеся формы микобактерий туберкулёза (МБТ) [6].

В 1907 г. округлые зерноподобные формы *Mycobacterium tuberculosis*, не окрашивавшиеся по Цилю-Нильсену (Ц-Н), были описаны Much [7]. Spengler обнаружил в мокроте больных кислотоустойчивые (КУ) формы, которые он назвал «осколками» [8]. В 1912 г. Krylov показал, что неокислостойчивые туберкулёзные палочки могут быть Грам-отрицательными (Гр -). Они могут давать гранулоподобные Гр+ формы, развивающиеся в частично КУ палочки [9]. В 1931 г. Maher суммировал результаты по культивированию неокислостойчивых форм микобактерий туберкулёза (МБТ) из старых культур [10]. Ravettlat and Pla у Armentgol показали три фазы жизненного цикла МБТ от НКУ кокков, диплококков, тетрад и цепей кокков, «зооглейной массы» до промежуточных форм, включающих НКУ палочки и зёрна Муха и бацилл Коха (постоянная форма) [11].

Благодаря работам Klienberger-Nobel, сложились представления об L-формах бактерий с дефектной клеточной стенкой, способных существовать в виде сферо- и протопластов [12]. Термин «cell wall deficient (CWD) – клетки с дефектной клеточной стенкой» предложил Dienes, который включает все изменённые формы МБТ [4]. Scilag, изучая проблему изменчивости, установил существование МБТ в двух формах – бациллярной и в виде микрококков [13].

В зависимости от условий выделения и культивирования исследователи обнаруживали у CWDF МБТ разную морфологию и степень кислотоустойчивости, причем, по внешним признакам их было трудно отнести к микобактериям [2, 4, 5].

Изучение полиморфизма МБТ и разработка методов их обнаружения показало их роль в возникновении латентной (скрытой) туберкулёзной инфекции [1, 14]. Установлено, что в большинстве случаев попавшие в организм патогенные КУ микобактерии конвертируются в НКУ CWDF, которые могут оставаться в дормантном состоянии и реверсировать в родительские КУ формы при развитии иммунодефицитного состояния хозяина [15]. В этой связи, бактериологическая диагностика, направленная на поиск классических кислотоустойчивых

рубиново-красных палочек, логична только при выявлении развитых форм болезни с морфологическими изменениями тканей, хотя это также ограничивает ее результативность [4].

В ветеринарной медицине давно существует проблема положительных реакций на туберкулин у коров при отсутствии у них видимых патологических изменений и отрицательных результатах бактериологического посева патологического материала на общепринятые питательные среды [1, 16]. Выделение атипичных микобактерий не всегда может объяснить причину возникновения таких реакций. Использование методов выявления L (CWD) форм микобактерий туберкулеза показало, что причиной туберкулиновых реакций у коров может быть латентная туберкулезная инфекция [17].

Для выделения CWDF МБТ использовали глицериновый агар, бульоны с сывороткой крови и декстрозой, PPLO, среду Kirchner с сахарозой и ионами Mg, среду Murohashi-Yoshida [18]. Считалось, что CWDF МБТ лучше растут на жидких средах с глицерином и твином 80 с добавлением сыворотки (лошади, свиньи, овцы или человека) и осмотических стабилизаторов (сахароза) [19, 20]. Китайские исследователи для выделения of CWD forms of mycobacteria использовали питательные среды TSA-L и TB-L с сывороткой овцы, 92 T B L [21], 92 3TB, 92 3TBL [22]. Особый интерес представляет использование таких сред для выделения CWDF МБТ из крови [23]. Стимулятор роста MucCel DW - стерильная, прозрачная жидкость с 0,1% хлоргексидина [3].

Вместе с тем, фактически нет универсальных рекомендаций по выделению CWDF МБТ, использование жидких и полужидких сред затрудняет обнаружение роста и работу с культурами, при этом, как правило, процесс выделения CWDF достаточно продолжителен.

Адаптация МБТ к защитным факторам организма, помимо образования L(CWD) форм, может проявляться их переходом в покоящиеся (дормантные) формы с резким снижением метаболической активности и отсутствием деления [24]. Для выделения таких форм, вероятно, требуется стимуляция способности к делению и определенным состав питательных сред. В этой связи, разработка новых питательных сред и методов выделения CWD и дормантных форм МБТ представляет значительный интерес.

Цель исследований – доказать, что предварительная инкубация в стимуляторах роста определенного состава МБТ, находящихся в крови, посев на соответствующие питательные среды обеспечивает получение через 2-5 суток роста *M. tuberculosis* и *M. bovis*, как правило, в CWDF и позволяет существенно повысить скорость и чувствительность бактериологической диагностики

Материал и методы исследований. Штаммы: *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇R_v, *Mycobacterium bovis* 8, *Mycobacterium bovis* BCG-1, *Mycobacterium bovis*.

Питательные среды и стимуляторы роста. Стимулятор роста и питательная среда ВКГ, «Ганза» (патент Украины №43467), стимулятор роста и питательная среда «Микофаст» («Doctor Vremia», Республика Беларусь). Взвеси культур, кровь, гомогенаты лимфатических узлов, смешанные со стимуляторами роста (1:1-1:2), инкубировали 24-48 ч при 37°C и по 0,5-0,7 мл высевали на питательные среды ВКГ и Микофаст (на 2-3 чашки Петри или на 4-5 пробирок). Контролями служили посеы стимуляторов роста без культур на соответствующие питательные среды.

Антитела для иммунопероксидазного окрашивания выделяли из антисывороток кроликов к соникатам *M. bovis* Vallee и *M. tuberculosis* H₃₇R_v. Для очистки антител (Ig) к антигенам, специфичным для *M. bovis* и *M. tuberculosis*, использовали сорбент из Affi-gel (Bio-Rad) с фиксированными на нём антигенами *M. bovis* и *M. tuberculosis*. Очищенные антитела конъюгировали с пероксидазой (Sigma) по Nakane (1974).

Препараты-мазки культур инаktivировали нагреванием при 65°C, 2 ч. Эндogenous пероксидазу инаktivировали нанесением на препарат-мазок 3% перекиси водорода на 30 мин и 95% метанола на 5 мин с последующим промыванием деионизованной водой. Далее на препараты-мазки наносили конъюгат пероксидазы с Ig к антигенам *M. bovis* или *M. tuberculosis*, инкубировали 1 ч при 18-22°C. Препараты-мазки промывали деионизованной водой с твином 20. Далее на них наносили субстратную смесь диаминобензидина (ДАБ) или смесь ДАБ и тетраметилбензидина с перекисью водорода. Через 1 ч мазки промывали деионизованной водой, высушивали и микроскопировали на световом микроскопе Olimpus BX51.

Для демонстрации возможности выделения CWDF микобактерий из крови с применением питательных сред ВКГ и Микофаст 2 кроликов заразили внутривенно *M. tuberculosis* H₃₇R_v и 2 кроликов per os *M. bovis* Vallee (по 1 мг бактериальной массы в 1 мл 0,85% раствора NaCl). Через 1 месяц у кроликов с соблюдением стерильности брали кровь, которую смешивали 1:1 со стимуляторами роста ВКГ и Микофаст и после 24 ч инкубации при 37°C высевали и высевали на среды ВКГ и Микофаст.

На питательные среды ВКГ и Микофаст была посеяна кровь коров, у которых после убоя при бактериологическом исследовании был выделен возбудитель туберкулеза. Контролем служила кровь здоровых туберкулинонотрицательных телят.

Результаты исследований. В препаратах-мазках из вакцины БЦЖ, как и культур *M. tuberculosis* и *M. bovis*, выращенных на среде Левенштейна-Йенсена, окрашенных по Ц-Н, закономерно обнаруживали типичные по морфологии кислотоустойчивые палочки. Редко встречались неокислотоустойчивые палочки и кокки (рисунок 1).

В мазках из колоний, выросших на питательных средах ВКГ и Микофаст, независимо от вида микобактерий, обнаруживали преимущественно неокислотоустойчивые (НКУ) CWD формы. Причём, если после инкубации в стимуляторах роста не менее 50% клеток еще оставалось кислотоустойчивыми, то после посева этой же суспензии на среды ВКГ и Микофаст, через 48-96 ч отмечался рост только НКУ форм (рисунок 2). Штаммы МБТ могли давать рост различных форм: крупных кокков (рисунок 2).

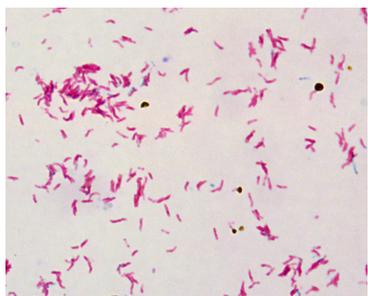


Рисунок 1 – *M. bovis* BCG до инкубации в стимуляторе роста. Ц-Н, (10x100)

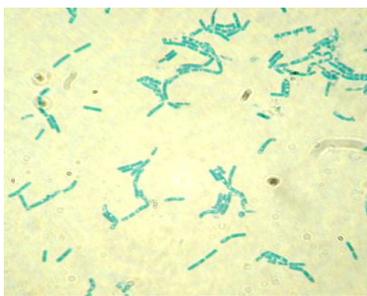


Рисунок 2 – *M. bovis* BCG-1 на среде ВКГ через 48 ч после посева. Ц-Н, (10x100)

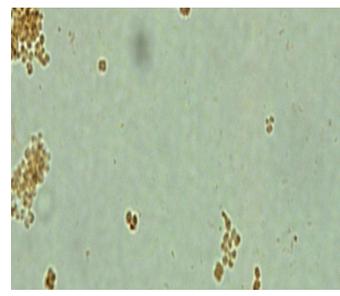


Рисунок 3 – *M. bovis* BCG на среде Микофаст. Иммунопероксидазная окраска (10x100)

CWD культуры *M. tuberculosis* и *M. bovis*, выращенные на питательных средах ВКГ и Микофаст, сохраняли родительские антигены. Они специфически окрашивались иммунопероксидазным методом с применением конъюгатов антител к *M. tuberculosis* и *M. bovis* с пероксидазой (рисунок 3), агглютинировались антисыворотками *M. tuberculosis* H₃₇R_v и *M. bovis* Vallee и не давали агглютинации в негативной сыворотке (рисунок 4).



а)



б)

Рисунок 4 – Суспензия *M. tuberculosis* H₃₇R_v, полученного на среде Микофаст: а) в антисыворотке *M. tuberculosis* H₃₇R_v; б) в негативной сыворотке (антисыворотка *M. tuberculosis* H₃₇R_v, адсорбированная антигенами *M. tuberculosis* и *M. bovis*)

Исследования, проведённые на известных штаммах МБТ, показали, что применение стимуляторов роста и питательных сред ВКГ и Микофаст позволяет получить быстрый рост (48-96 ч) их CWD форм, которые можно рассматривать, как маркер туберкулёзной инфекции.

Исследование крови коров больных туберкулёзом, через 3-5 суток после посева на питательные среды ВКГ и Микофаст во всех случаях получен рост колоний неокислостойчивых палочек, в том числе (пустых) (слабоокрашенных биполярных) кокков, а также КУ рубиново-красных палочек, которые также окрашивались иммунопероксидазным методом (рисунки 5, 6).

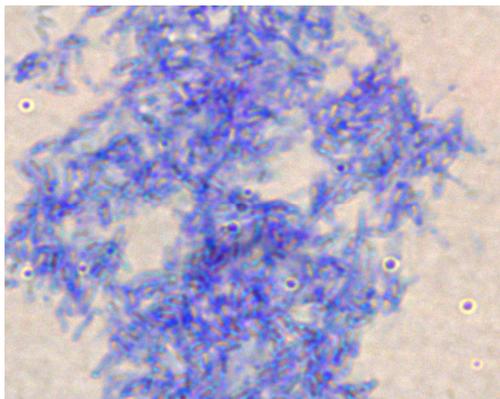


Рисунок 5 – Посев крови коровы на среду Микофаст (5 сутки), неокислостойчивые палочки (пустые), биполярные Ц-Н (10x100)

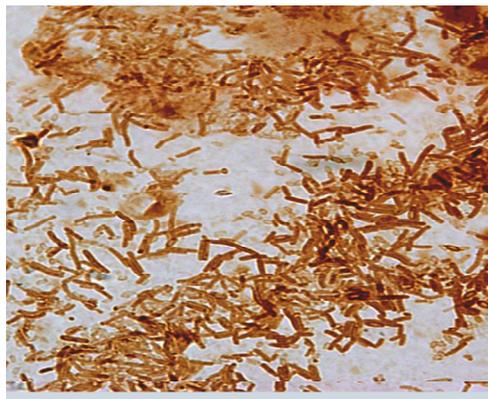


Рисунок 6 - Морфология микобактерий из посева крови коровы, больной туберкулёзом, на среду Микофаст 5 сутки, иммунопероксидазная окраска (10x100)

Нетуберкулезная микрофлора и ткани здоровых животных при использованных параметрах окраски приобретали синий или зеленовато-голубой цвет и чётко отличались от CWD МБТ.

Заключение. Исследования, проведённые на эталонных штаммах микобактерий, показали, что их инкубация (24 ч при 37°C) в стимуляторах роста ВКГ и Микофаст, вызывает частичную потерю кислотоустойчивости клеток и придает способность к быстрому росту на питательных средах ВКГ и Микофаст. Судя по полной потере кислотоустойчивости и изменению морфологии выросших культур, у микобактерий происходят существенные изменения в клеточной стенке, поэтому такие культуры мы считали CWD FM. Если бы быстрый рост (за 2-5 суток) шёл за счет каких-то контаминантов, а микобактерии не претерпевали

трансформации, то в препаратах-мазках из колоний, безусловно, присутствовали бы в значительных количествах неизменённые КУ родительские клетки.

Литература. 1. Агеева Т. Н. Результаты испытания среды ВКГ и набора ИФА – «Бовитуб» в условиях производства // Агеева Т. Н., Лысенко А.П., Красникова Е.Л. // Ученые записки УО «ВГАВМ»: Сборник научных трудов по материалам международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и зоотехнии», посвященной 80-летию основания УО «ВГАВМ», г. Витебск, 4-5 ноября 2004 года. – Т. 40, ч. 1. – С. 110-113. 2. Архипов И.Н. Серологические, бактериологические и молекулярно-генетические маркеры туберкулезной инфекции крупного рогатого скота: Автореф. дисс. ... канд. вет. н.- Минск 2011.- 21с. 3. Лысенко А.П. Диагностическая ценность питательной среды ВКГ для прижизненного выявления туберкулезной инфекции у крупного рогатого скота / А.П. Лысенко, А.П. Леммиш, И.Н. Архипов, [и др.] // Ветеринарна медицина. - Мижвид. темат. наук. зб. 85.- 2005.- С.695-699. 4. Mattman L.H. Cell Wall Deficient Forms. Stealth Pathogens / L.H Mattman / CRC Press. 2nd ed., 1993. 5. Malassez L., Vignal W. Tuberculose zoogloeiue. Archives de Physiologie Normale et Pathologique, // L. Malassez., W Vignal./1883, series 3, 2, 369-412. 6. Nocard, Roux. Ann. Inst.Pasteur // Roux. Ann Nocard, //1887, 1,19. 7. Much H. About granular, according to Ziel nonstainable form of tuberculous virus. Beitrage Klinik der Tuberkulose, // H Much 1907, 8, 85-89. 8. Spengler C. Z. Hyg.u.Infectionskrankh // C. Z. Spengler. 1905, 49, 541. 9. Krylov D.O. Z. Hyg. u. Infectionskrankh, / D.O Krylov. / 1912, 70, 135. 10. Maher S. J. Am.Rev.Tuberc./ S. J Maher // 1925, 12, 365. 11. Ravetllat J., Pla y Armengol R. La bacteria de la tuberculosis, Barcelona, Tipografia Catalana, // J Ravetllat //1924. 12. Klienberger-Nobel E., Origin, development and significance of L-forms in bacterial cultures. J.Gen. Microbiol., //E Klienberger-Nobel// 1949, 3, 434-442. 13. Csillag A. Spore formation and «dimorphism» in the mycobacteria. J. Gen. Microbiol.// A Csillag 1961, 26, 97-109. 14. Zemskova Z.S., Latent tuberculose infection (In Russian) // Z.S Zemskova., I.R Dorozhkova // Moscow, - Medicina. - 1984. - 221 p. 15. Chandrasekhar S. Studies on cell-wall deficient non-acid fast variants of Mycobacterium tuberculosis. Tubercle and Lung Disease.// S. Chandrasekhar , S Ratnam // 1992, p. 273-279. 16. Anon. The tuberculin test. Vet.Rec.// Anon 1942, 54, p.191-192. 17. Baiteriakova T.I., Persistence of mycobacteria in cattle (In Russian). Problemy Tubeculeza i Bolezni Legkikh / T.I. Baiteriakova, I.N. Rubtsova, I.A Makarov// 1982, 11, p.59-60. 18. Chiodini R.J.,Sheroplastic phase of mycobacteria isolated from patients with Crohn's disease. Journal of Clinical Microbiology./ R.J Chiodini., H.J Van Kruijningen., W.R Thayer., J.A Couto // 1986, 24, 357-363. 19. Markesich D.C., Progress in culture and subculture of shero-plasts and fastidious acid-fast bacilli isolated from intestinal tissues. Journal of Clinical Microbiology/ D.C Markesich. D.Y.Graham., H.H Yoshimura, //1988, 26, 1600-1603. 20. Wu Fengxia., Clinical significance of the examination to MTB-L. Bulletin of Chinese Antituberculosis Association // Fengxia Wu, Huiling Li, Xinjun Wang // 2004-02. 21. Zhu Mingli, et al. Detecting mycobacteria and their L forms in peripheral blood from pulmonary tuberculosis patients by cultivation with hemolyzed-centrifugated blood in liquid medium. Chinese Journ. Of Tuberculosis and Resp. Diseases, 2000-09. 22. Zhu Mingli, et al. Detecting mycobacteria and their L forms in peripheral blood from pulmonary tuberculosis patients by cultivation with hemolyzed-centrifugated blood in liquid medium. Chinese Journ. Of Tuberculosis and Resp. Diseases, / Mingli Zhu , Peiyong Xia , Yuanhe Zhang // 2000-09. 23. Zhu Mingli, Comparison of five methods for detection of Mycobacterium tuberculosis and their L-forms in peripheral blood of pulmonary tuberculosis and lung cancer patients. Journal of Bengbu Medicinac College /. Mingli Zhu, Yuanhe Zhang, Mingjun Li, Linian Huang, Enju Wang, Tefu Lin, Min Yao//. 2001-01. 24. Wayne L.G., Sohaskey Ch.D. Nonreplicating persistence of Mycobacterium tuberculosis. Annual Review of Microbiology. // L.G. Wayne 2001 // Vol. 55, p.139-163.

Статья передана в печать 12.03.2015 г.

УДК 619:616.98:579.841.94:579.22

ПОДБОР РЕЖИМОВ РЕАКТОРНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПАСТЕРЕЛЛ И БОРДЕТЕЛЛ

*Вербицкий А.А., *Морозов Д.Д., **Финогенов А.Ю., **Толяронок Г.Е.

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

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

В статье рассматриваются вопросы реакторного выращивания пастерелл и бордетелл в жидких питательных средах. Определены оптимальные режимы глубинного культивирования указанных бактерий в условиях реактора.

The article considers some features of the reactor growing of pasteuriae and bordetellae bacteria in liquid media. The optimal conditions of cultivation in the reactor are determined.

Ключевые слова: пастереллы, бордетеллы, реактор, культивирование, режим, аэрация.

Keywords: pasteuriae, bordetellae, reactor, cultivating, conditions, aeration.

Введение. Респираторные болезни свиней имеют широкое распространение во всех странах мира с развитым свиноводством и наносят огромный экономический ущерб отрасли. По происхождению и клинико-морфологическому проявлению они весьма разнообразны, чаще бактериальной этиологии и, как правило, регистрируются у животных в послееотъемный период. По результатам бактериологических исследований установлено, что возбудитель бордетеллеза выделяется из патматериала в 5-30% случаев. Наряду с бордетеллами, в 15-40% случаев обнаруживается возбудитель пастереллеза [2]. Возрастная восприимчивость свиней к указанным возбудителям совпадает. Ввиду этого появляется необходимость сочетанной профилактики бордетеллеза и пастереллеза. Наиболее действенной мерой профилактики инфекционных болезней является иммунизация животных специфическими препаратами - вакцинами [1]. Для получения ассоциированной вакцины против пастереллеза и бордетеллеза необходимо нарастить достаточное количество бакмассы, пригодной для конструирования препарата. Поэтому целью данной работы явилось отработка оптимальных режимов культивирования пастерелл и бордетелл, позволяющих в короткие сроки наращивать максимальное количество бакмассы, пригодной для получения ассоциированной вакцины.

Материалы и методы исследований. Работа была начата с изучения процесса выращивания пастерелл и бордетелл в жидких питательных средах в условиях реактора. При этом учитывали температуру культивирования, интенсивность аэрации, скорость вращения мешалки, объем подаваемого в реактор воздуха, концентрацию водородных ионов растущей культуры и другие показатели.

В экспериментальной работе использовали реактор «Фермус-3Н» (производства РФ), сыворотно-дрожжевой МПБ с глюкозой и дрожжевым экстрактом, бульонную цитратно-дрожжевую среду, среду Хоттингера и другие среды. Стерильность питательных сред и видоспецифичность выращиваемых в них бактерий определяли общепринятыми в микробиологической практике методами. Концентрацию растущей культуры определяли с помощью стандарта мутности и величине оптической плотности.

Отработку режимов реакторного культивирования пастерелл провели на сыворотно-дрожжевом МПБ с глюкозой и дрожжевым экстрактом. В качестве расплодки для засева питательной среды в реакторе использовали 18-20-ти часовую бульонную культуру в объеме 7 и 19%. Культивирование провели в течение 9-14 часов при:

- температуре (t) 37⁰С и поддержании рН среды в пределах 7,0-7,6;
- минимальной подаче стерильного воздуха через фильтр марки «СФ» и нарастающей скорости вращения мешалки (N) от 90 до 240 оборотов в минуту;
- поддержании содержания кислорода (рО₂) в среде в пределах 10-30%;
- двукратном добавлении раствора глюкозы из расчета 0,2-0,3% по сухому веществу.

Культивирование бордетелл провели в бульонной цитратно-дрожжевой среде. В качестве расплодки использовали 18-20-ти часовую бульонную культуру в объеме 16% и 21%. Выращивание осуществили в течение 36-40 часов при:

- температуре (t) 35-36⁰С и поддержании рН среды в пределах 6,6-7,0 путем добавления 10%-го раствора соляной кислоты;
- поддержании еН среды в пределах от +60 до -60 мв с дополнительным контролем этого показателя по бесцветному – слабо-розовому состоянию индикатора (среда с резазурином);
- отсутствии подачи воздуха и при периодически медленно работающей магнитной мешалке в течение 1-2 часов до достижения видимой мутности (состояние резазурина – бесцветное);
- в последующем при минимальной подаче стерильного воздуха (в пределах 1л/л среды в минуту) и постепенно нарастающей скорости вращения мешалки (N) от 30 до 90 оборотов в минуту в зависимости от окраски резазурина (бесцветной) и еН среды;
- порционном добавлении раствора натрия цитрата из расчета 0,06% по сухому веществу при изменении еН среды в сторону окисления (более +20).

Аэрацию начинали после изменения оптической плотности (ОП) бульонных культур через 1-1,5 часа (для пастерелл ОП не ниже 0,3 и для бордетелл - не ниже 0,1). Период удвоения популяции роста этих бактерий устанавливали по приросту биомассы за единицу времени.

Выход биомассы бактерий в 1 мл определили с помощью стандарта мутности. В ходе роста бактерий отбирали пробы развивающихся культур через 1-2 часа первые 8-10 часов, а затем через каждые 3 часа, определяли накопление биомассы по ОП, проводили замеры рО₂, рН и еН, позволяющие проследить фазы роста и установили момент введения субстрата для бактерий: глюкозы - для пастерелл и цитрата натрия - для бордетелл. Устанавливали, при каких параметрах и объеме расплодки для бордетелл выход биомассы был 5 млрд. м.к. в 1 мл. и выше, а также при каких рН и еН наблюдается наиболее интенсивный рост.

Результаты исследований. Установили, что для оптимального режима достижения цели при культивировании пастерелл необходимо выполнение следующих параметров:

- А - постоянных
 - 1) температура (t) (37+1)⁰С;
 - 2) поддержание рН среды в пределах 7,0-7,6;
 - 3) выращивание (ΔT) в течение 8-10 часов (не более);
 - 4) содержание глюкозы из расчета 0,2-0,3% по сухому веществу и 0,5% дрожжевого экстракта в питательной среде до начала культивирования и в процессе роста бактерий;
 - 5) подача подпитывающего раствора глюкозы дважды-трижды из расчета 0,25-0,4% по сухому веществу при достижении ОП растущей культуры 0,35-0,5 ед., при ОП равной 0,8-1,0 и ОП равной 1,3-1,4;
 - 6) поддержание содержания кислорода (рО₂) в среде в пределах 10-30%;
 - Б - изменяемых
 - 7) введение 1-3% сыворотки крови в среду (добавлять можно до 15%);
 - 8) нарастающий режим аэрации с 1 по 6 час при возрастающей скорости вращения мешалки (N) от 90 до 240 оборотов в минуту;
 - 9) уменьшение режима аэрации с 6 по 10 час (на 15-25%);
 - 10) подача стерильного воздуха в объеме 0,25-0,3 л/мин в течение 1-3 часа (до добавления глюкозы и пеногасителя в среду).
 - 11) исключение избыточной аэрации (без пены);
 - 12) возрастающая подача воздуха, начиная с 2,5-3 часов в объеме 0,5-1,2 л/мин после введения пеногасителя и достижения ОП 0,5-0,6 (не ранее);
 - В - ситуационных
 - 13) постепенно возрастающая подача раствора щелочи по мере накопления биомассы и падения рН;
 - 14) временное отключение в реакторе подачи воздуха и мешалки в случае образования пены на 10-20 минут до введения пеногасителя;
 - 15) возможно полное отключение реактора после 8 часов выращивания, в случае если ОП не изменяется в течение 1 часа при оптимальных рН, рО₂ и концентрация биомассы достигла 8 млрд. м.к. в 1 мл.
- Для достижения указанной концентрации применяли расплодку в объеме 7% (1 опыт) и 19% (2 опыт).

Результаты культивирования пастерелл при добавлении в реактор расплодки в объеме 7% представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Культивирование пастерелл при внесении в реактор расплодки в объеме 7%

ΔТ, Час	Т°С	N, об/мин	pH	Конц. АГ (млрд/мл)	Добавки
0	31-37	120	7,2	-	Сыворотка
1	37	150	↑7,0	0,16	NaOH
2	37	180	↑7,2	0,38	-
3	37	210	↑7,0	0,95	NaOH
4	37	N↓180B	↑7,2	1,0	Глюкоза
5	37	225	↑7,1	1,0	NaOH
6	37	210П	↑7,2	1,0	ДЭ, NaOH
7	37	N↓180	5,6↑7,2	1,2	NaOH
8	37	180	↑7,2	1,4	-
9	37	180	↑7,2	1,6	-
10	37	N↓150	6,4↑7,3	1,8	-
11	37	150	↑7,2	2,1	Глюкоза
12	37	150	↑7,2	2,4	NaOH
13	37	150	↑7,2	2,7	-
14	37	N↓135	↑7,2	4,5	-

В итоге концентрация биомассы была 1,8-4,5 млрд. м.к. в 1 мл. Глюкозу и дрожжевой экстракт (ДЭ) в питательную среду изначально не вносили. Для получения более высокой концентрации бакмассы объем расплодки оказался недостаточным.

Во втором опыте недостатки учли. Глюкозу и дрожжевой экстракт в питательную среду вносили до выращивания. Результаты культивирования пастерелл при добавлении в реактор расплодки в объеме 19% представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Культивирование пастерелл при внесении в реактор расплодки в объеме 19%

ΔТ, Час	Т°С	N, об/мин	pH	Конц. АГ (млрд/мл)	Добавки
0	30-37	120	7,4	-	Сыворотка
1	37	150	7,2	0,3	-
2	37	180	↑7,2	0,8	NaOH
3	37	210B	↑7,2	1,6	Глюкоза
4	37	210ПГ	↑7,2	3,4	NaOH
5	37	210	↑7,2	5,2	ДЭ, NaOH
6	37	210	↑7,2	6,8	Глюкоза
7	37	N↓180	↑7,2	8,0	NaOH
8	37	180	↑7,2	8,5	Глюкоза
9	37	180	↑7,2	8,8	NaOH

В итоге концентрация биомассы составила 8,8 млрд. м.к. в 1 мл после 9 часов выращивания.

При культивировании бордетелл необходимо выполнение следующих параметров:

А - постоянных

- 1) температура (t) 35-36⁰С;
- 2) поддержание pH среды в пределах 6,6-7,0;
- 3) выращивание (ΔТ) в течение 36-42 часов;

4) содержание сыворотки крови инактивированной стерильной в объеме 5%;

5) содержание цитрата натрия из расчета 0,03-0,06% по сухому веществу, 0,3-0,5% дрожжевого экстракта, 0,5% глюкозы и 0,016% глутамина в питательной среде до начала культивирования и на протяжении получения расплодки - для уменьшения времени лаг-фазы;

Б - изменяемых

6) подача подпитывающего раствора цитрата натрия из расчета 0,03% по сухому веществу при остановке роста и при изменении еН среды в сторону окисления более +15...+20 ед. и изменении окраски резазурина из бесцветного в розовую;

7) без подачи воздуха при периодически медленно работающей магнитной мешалке в течение 1-2 часов до достижения видимой мутности (при бесцветной окраске резазурина);

8) скорость вращения мешалки (N) от 30 до 90 оборотов в минуту в зависимости от окраски резазурина и еН среды в пределах ±30 ед;

9) минимальная подача стерильного воздуха (B) и только в случае если еН находится в пределах +30...-30 ед.;

10) более интенсивная аэрация после изменения оптической плотности (ОП) бульонной культуры бордетелл (выше 0,1);

11) раствор 10%-й соляной кислоты вводить не ранее 9-10 часов с начала культивирования по достижении ОП бульонной культуры 0,25-0,3, осторожно, малыми порциями (в пределах 15 мл);

- 12) порционное добавление 0,5% раствора натрия цитрата (по 2-4 мл) из расчета 0,03% по сухому веществу при изменении еН среды в сторону окисления (более +20 ед.);
 13) не должно быть избыточной аэрации при любом раскладе;
 14) уменьшение режима аэрации с 26 -30 часов (на 20-30%);
 В - ситуационных
 15) постепенно возрастающая подача раствора щелочи по мере накопления биомассы и падения рН;
 16) временное отключение в реакторе подачи воздуха и мешалки в случае пенообразования и закисления среды (еН → 60) до 30 минут;
 17) полное отключение реактора возможно и ранее 40 часов, в случае если ОП не изменяется в течение 2-3 часов при оптимальных рН и еН, даже после добавления цитрата натрия и (или) глутамин при достижении концентрации биомассы 5 млрд. м.к. в 1 мл.
- Результаты культивирования бордетелл при объеме расплодки 16% представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Культивирование бордетелл при объеме расплодки 16%

ΔТ, час	Т°С	N, об/мин	рН	Конц. АГ (млрд/мл)	Добавки
0	24↑36	100	6,6-6,8	0	сыворотка 7%
1	37	150	--/--	0,09	1 сутки
2	37	180↓150	--/--	0,1	-
3	37	↓90	6,8-7,0	0,18	-
4	37	90	--/--	0,21	-
5	37	90	--/--	0,3	-
6	37	90/10в	--/--	0,45	-
7	37	90/10в	7,2↓6,8	0,48	НСІ
10	37	90/10в	7,2↓6,6	0,6	НСІ
12	36	90/10в	7,4↓6,5	0,8	НСІ
22	35-36	90/10в	7,4↓6,8	1,0	2 сутки НСІ
24	35-36	↓60/10в	7,4↓6,7	1,2	НСІ
26	35-36	60/10в	7,5↓6,5	1,3	НСІ
28	35-36	60/20в	7,2↓6,8	1,28	НСІ
30	35-36	60/30в	7,1↓6,5	1,33	НСІ
32	35-36	120/30в	7,4↓6,7	1,38	НСІ
36	35-36	↓90/15в	7,2↓6,6	1,46	НСІ
46	35-36	90/15	7,3↓6,6	1,5	3 сутки
48	35-36	90/15	7,4↓6,8	1,6	-
52	35-36	90/15	7,3↓6,8	1,75	-
56	35-36	120/20	7,3↓6,5	1,8	10%НСІ
60	35-36	90/10	7,0↓6,3	1,9	-
70	35-36	90/10	7,8↓7,0	2,1	4 сутки

Глюкоза и дрожжевой экстракт (ДЭ) в питательную среду не вносились. Раствор цитрата натрия (ЦН) вводился дважды. Измерений еН не проводилось.

Период удвоения популяции составлял 126 минут со 2 по 30 час выращивания. Концентрация биомассы бордетелл была 2,1 млрд. м.к. в 1 мл.

Во втором опыте дополнительно ввели определение показателя еН. Стерильный 0,5% раствор цитрата натрия (ЦН) вводился с учетом еН среды и цвета резазурина. рН измеряли отдельным портативным рН-метром перед определением ее ОП.

Сыворотку крови (9%), дрожжевой экстракт, раствор глюкозы и глутамин в питательную среду вносили перед культивированием.

Результаты культивирования бордетелл при объеме расплодки 21% представлены в таблице 4. В итоге концентрация биомассы была 5,2 млрд. м.к. в 1 мл.

Таблица 4 - Культивирование бордетелл при объеме расплодки 21%.

ΔТ, Час	Т°С	N, Об/мин	рН, ед	еН, ед.	Конц. АГ (млрд/мл)	Добавки
0	26↑36	40	6,6	-10	0	1 сутки
2	36	60	6,8	-8	0,1	Сыв, гл, ДЭ, глут
3	36	60	6,8	0	0,2	-
4	36	60	7,0	+7	0,3	-
5	36	90	--/--	+28↓	0,45	ЦН
6	36	90	--/--	-12	0,6	-
7	36	90	--/--	+3	0,8	-
8	36	90/10в	7,0	+34↓	1,0	ЦН, ДЭ
10	36	90/10в	7,2↓6,8	+6	1,3	-
12	36	90/10в	7,2↓6,7	+30↓	1,5	-
14	36	90/10в	7,2↓6,5	+47↓+4	2,3	ЦН
24	35-36	90/10в	7,6↓6,5	+52↓0	2,7	2 сутки НСІ, ЦН
26	35-36	60/10в	7,2↓6,6	+11↓0	3,4	глутамин

Продолжение таблицы 4						
28	35-36	60/10в	7,5↓6,8	-2	4,0	НСІ, ДЭ
30	35-36	60/20в	7,2↓6,6	+36↓-4	4,3	ЦН
32	35-36	60/30в	7,3↓6,5	+29↓-1	4,8	ЦН
34	35-36	120/30в	7,4↓6,8	+22↓-3	5,0	НСІ
38	35-36	90/15в	7,3↓6,6	+46↓-5	5,2	ЦН

Заклучение. 1. Реакторное выращивание пастерелл в сыворотно-дрожжевом бульоне в течение 9 часов, при температуре 37⁰С, рН 6,6-6,8 и нарастающем режиме аэрации позволяет получить биомассу бактерий 8,8 млрд. м.к. в 1 мл. 2. Реакторное выращивание бордетелл в цитратно-дрожжевой среде в течение 38 часов, при температуре 35-36⁰С, рН 6,8-7,0 и незначительном режиме аэрации позволяет получить биомассу бактерий 5,2 млрд. м.к. в 1 мл. 3. При реакторном культивировании пастерелл и бордетелл большое значение имеет объем вносимой расплодки, введение в среду сыворотки крови, дрожжевого экстракта, раствора глюкозы и глутамина.

Литература. 1. Медведев, А.П. Основы получения противобактериальных вакцин и сывороток / А.П. Медведев, А.А. Вербицкий. – Витебск: ВГАВМ, 2010.-200с. 2. Разработка средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В. В. Максимович [и др.] // Научные труды / Институт экспериментальной ветеринарии им. С.И. Вышелесского НАН Беларуси. – Минск, 2005. – Вып. 38 : Ветеринарная наука – производству. – С. 359–361. 3. Шубина Е.А. Изучение факторов патогенности *Pasteurella multocida* с целью разработки нового поколения противопастереллезных вакцин: Автореф. дис...канд. биол. наук: Всерос. н.-и. и технол. ин-т биол. пром-сти РАСХН. - Щелково, 2003. - 30 с.

Статья передана в печать 27.04.2015 г.

УДК 619:576.89:619:616-07:636.4

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ КОПРООВОСКОПИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТРИХОЦЕФАЛЕЗА СВИНЕЙ

*Галат В.Ф., **Мельничук В.В.

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина,

**Полтавская государственная аграрная академия, г. Полтава, Украина

В статье представлены результаты исследований по усовершенствованию методов копроовоскопической прижизненной диагностики трихоцефалеза свиней. Предложен флотационный раствор, который имеет высокую плотность, а также определено время отстаивания фекальных проб, что повышает диагностическую эффективность исследований. Установлено, что усовершенствованный метод диагностики трихоцефалеза свиней по эффективности превышает общеизвестные методы Фюллеборна и Котельникова-Хренова.

The article presents the results of studies on the improvement of methods of lifetime diagnostics of coproovoscopy of trichocephalosis of pigs. Proposed flotation solution, which has high density and is defined settling time fecal samples, which increases the efficiency of diagnostic investigations. It was found that the improved method of diagnosis of trichocephalosis of pigs efficiency exceeds the well-known methods of Fulleborn and Kotelnikov-Khrenov.

Ключевые слова: свиньи, яйца трихоцефал, флотация, копроовоскопия, интенсивность инвазии.

Keywords: pigs, eggs of *trichocephalus*, flotation, coproovoscopy, intensity of invasion.

Введение. Свинина обладает высокой пищевой ценностью. Вот почему выращивание свиней на мясо как наиболее скороспелого вида животных высокоэффективно и экономически выгодно. Всё это говорит о необходимости расширения производства свинины, особенно с более высокими показателями выхода мяса. Большую опасность представляют паразитарные болезни свиней, среди которых значительное место занимают гельминтозы желудочно-кишечного тракта [1, 3, 9]. Они имеют широкое распространение и приносят большие убытки свиноводческим хозяйствам, которые складываются из: падежа животных, снижения их упитанности, задержки роста и развития молодняка, ослабления иммунитета, нарушения обмена веществ, ухудшения качества продукции [10, 14, 16].

Одним из возбудителей кишечных нематодозов, который повсеместно распространен среди свиноголовья хозяйств с различной технологией содержания, является *Trichocephalus (Trichuris) suis*. Трихоцефал – нематоды длиной 20–53 мм с тонким длинным нитевидным головным и коротким толстым хвостовым концом. Локализуются в толстых кишках свиней. Яйца гельминта бочкообразной формы с двумя пробочками на полюсах, имеют плотную гладкую оболочку. Размеры их 0,052–0,061 мм в длину и 0,027–0,030 мм в ширину. Зараженные животные с фекалиями выделяют яйца, в которых во внешней среде при благоприятных условиях через 30–35 дней формируется личинка [7, 8, 12].

Диагностика гельминтозов свиней, в том числе и трихоцефалеза, имеет свои особенности, а также является основным звеном в системе мер, направленных на успешную борьбу и профилактику инвазий. Точный диагноз может быть установлен в условиях выявления возбудителей инвазионных заболеваний. При постановке диагноза на трихоцефалез определяющими являются лабораторные методы прижизненных исследований, а именно копроовоскопические [5, 15].

Для выявления яиц гельминтов предложены методики исследования фекалий животных с использованием различных флотационных растворов (Котельникова-Хренова, Фюллеборна, Дарлингга, Щербовича и др.). Они основаны на принципе всплывания яиц гельминтов в жидкостях с высокой плотностью. Это достигается вследствие разницы удельного веса яиц и гипертонических растворов. Гельминтооскопия включает немало методов исследований, неравнозначных по своей эффективности. На практике чаще всего применяют методы Фюллеборна (с насыщенным раствором поваренной соли) и Котельникова-Хренова (с нитратом аммония) [11].

По данным Р.Т.Сафиуллина (2001) [13], при диагностике нематодозов свиней эффективность копроскопических методов составила: по Фюллеборну при аскариозе – 90 %, при эзофагостомозе – 95 %, при трихоцефалезе – 60 %, а по методу Дарлингга соответственно 90 %, 90, 60 %. Диагностическая эффективность метода Калантаряна при аскариозе составила 95 %, эзофагостомозе – 100 % и трихоцефалезе – 90 %, Щербовича соответственно – 95 %, 100 и 100 %, Котельникова-Хренова – 95 %, 100 и 70 %, Маллори – 95 %, 100 и 80 %.

Дахно И.С. (2004) [2] установил, что эффективность метода Фюллеборна при аскариозной инвазии не превышала 40 %, трихоцефалезной – 33,3 % и эзофагостомозной – 20 %, а Котельникова-Хренова соответственно – 46 %, 40 и 20 %.

Таким образом, эти методы имеют различную диагностическую эффективность, некоторые из них являются трудоемкими и связаны со сложностью нахождения яиц паразитов при низкой интенсивности инвазии [4, 6].

Поэтому актуальными являются вопросы, связанные с разработкой и внедрением в производство новейших, эффективных, относительно дешевых и действенных методов диагностики гельминтозов животных.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили в течение 2014 года на базе научной лаборатории кафедры паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы факультета ветеринарной медицины Полтавской государственной аграрной академии.

Для определения эффективности известных методов копроовоскопической диагностики трихоцефалеза свиней и усовершенствованного способа было исследовано 50 проб фекалий от животных, которые принадлежали неблагополучным хозяйствам Полтавской области (Полтавский, Зеньковский, Гребенковский районы). Фекалии отбирали с пола непосредственно после акта дефекации или индивидуально из прямой кишки. Исследования проводили методом В.Н. Трача. При этом вычисляли количество яиц в 1 г фекалий свиней (ЯГФ).

Заведомо инвазированный яйцами трихоцефал материал исследовали тремя методами с различным термином отстаивания фекальной суспензии (5, 10 и 15 минут):

- 1) метод Фюллеборна;
- 2) метод Котельникова-Хренова;
- 3) усовершенствованный метод с использованием диамида угольной кислоты (карбамид, мочевины – $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$).

Определяли интенсивность трихоцефалезной инвазии и степень видимости яиц гельминтов при микроскопии. Всего проведено 450 исследований. Обнаружение в материале и фотографирование яиц трихоцефал проводили под микроскопом МБС при увеличении $\times 100$, $\times 120$.

Статистическую обработку результатов экспериментальных исследований проводили путем определения среднего арифметического (M) и его погрешности (m).

Результаты исследований. Усовершенствованный метод копроскопической диагностики трихоцефалеза свиней основан на применении флотационного раствора на основе химического соединения – карбамида, который содержит не менее 46 % азота и имеет плотность 1,32 г/см³. Производится посредством синтеза аммиака и углекислого газа при высоких давлениях и температуре. Карбамид представляет собой белый мелкокристаллический порошок, хорошо растворимый в воде, не содержит нитратов и почти нейтрален. Растворение его в воде происходит с поглощением тепла. Температура плавления – 132,7° С.

Флотационный раствор приготавливали путем добавления одного литра воды к 1400 г карбамида и последующем доведении смеси до кипения, периодически ее помешивая. Затем однородную смесь остужали, фильтровали и получали готовый раствор.

В результате проведенных исследований установлена высокая диагностическая эффективность усовершенствованного метода при трихоцефалезе свиней (таблице 1).

Таблица 1 - Сравнительная эффективность методов прижизненной копроовоскопической диагностики трихоцефалеза свиней (n=50)

Метод исследования	Интенсивность инвазии (ИИ), ЯГФ ($M \pm m$)		
	Время отстаивания		
	5 мин.	10 мин.	15 мин.
Усовершенствованный метод	2,96±2,28	6,24±2,43	9,68±2,81
Метод Котельникова-Хренова	2,32±0,55	4,16±0,79	6,16±0,92
Метод Фюллеборна	1,2±0,55	1,6±0,36	2,16±0,36

При использовании с диагностической целью метода Фюллеборна в течение 5 мин. находили наименьшее количество яиц в пробах – 1,2±0,55 ЯГФ. С увеличением времени отстаивания фекалий в гипертоническом растворе количество найденных яиц постепенно увеличивалось и составило: при 10 мин. – 1,6±0,36 ЯГФ (на 25 % относительно 5 мин. отстаивания), при 15 мин. – 2,16±0,36 ЯГФ (на 44,4 и 25,9 %

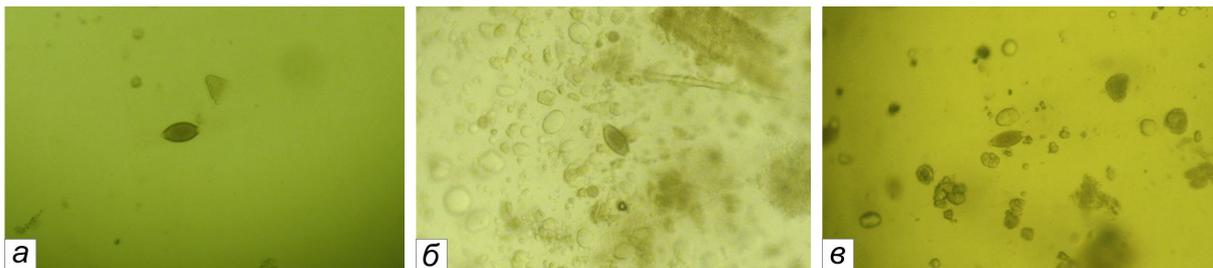
относительно 5 и 10 мин. отстаивания соответственно). С увеличением времени отстаивания яйца начинали напиваться раствором и оседать на дно пробы.

Применение метода Котельникова-Хренова характеризовалось увеличением количества найденных яиц трихоцефал (от $2,32 \pm 0,55$ до $6,16 \pm 0,92$ ЯГФ) по сравнению с методом Фюллеборна. Это объясняется большей плотностью гипертонического раствора и более высокой эффективностью метода (на 48,3– 64,9 %). Так, при отстаивании фекальной суспензии в течение 5 мин выявляли $2,32 \pm 0,55$ ЯГФ, 10 мин. – $4,16 \pm 0,79$ (на 44,2 % относительно 5 мин. отстаивания), 15 мин. – $6,16 \pm 0,92$ ЯГФ (на 62,3 и 32,5 % относительно 5 и 10 мин. отстаивания соответственно).

Наибольшую эффективность при копроскопической диагностике трихоцефалеза свиней показал усовершенствованный нами метод (на 77,7 и 36,4 % по сравнению с методами Фюллеборна и Котельникова-Хренова соответственно). Такая высокая способность поднимать на поверхность гипертонического раствора наибольшее количество яиц трихоцефал объясняется составляющими самой соли, которая используется для приготовления раствора. Количество выявленных яиц в зависимости от времени отстаивания фекальной суспензии составило: при 5 мин. – $2,96 \pm 2,28$ ЯГФ, при 10 мин. – $6,24 \pm 2,43$ (на 52,6 % относительно 5 мин. отстаивания), 15 мин. – $9,68 \pm 2,81$ ЯГФ (на 92,4 и 35,5 % относительно 5 и 10 мин. отстаивания соответственно). При отстаивании проб больше 15 мин количество яиц возбудителей трихоцефалезной инвазии уменьшается за счет их оседания. Это обуславливает отсутствие инвазионных элементов на поверхности гипертонического раствора.

Таким образом, эффективность копроскопической диагностики трихоцефалеза свиней зависит не только от плотности используемого раствора, составляющих химических веществ, которые используются для его приготовления, но и от времени отстаивания фекальной суспензии.

Сравнивая общеизвестные и усовершенствованный копроскопические методы прижизненной диагностики трихоцефалеза свиней одновременно учитывали степень видимости яиц гельминтов при микроскопии, что является важным фактором при их подсчете. Установлено, что при использовании усовершенствованного метода яйца трихоцефал имеют четкие очертания (рисунок 1 а), в поле зрения микроскопа практически отсутствуют посторонние частицы, яйца легко обнаруживаются и подсчитываются. Это объясняется высокой коагуляционной способностью предложенного флотационного раствора по отношению к непереваренным остаткам фекалий.



а – усовершенствованный; б – Котельникова-Хренова; в – Фюллеборна
Рисунок 1 – яйца *Trichocephalus suis*, выделенные при использовании различных методов копроовоскопии (x 100)

В то же время при использовании методов Котельникова-Хренова (рисунок 1. б) и Фюллеборна (рисунок 1 в) в поле зрения микроскопа обнаруживали большое количество посторонних частиц. Последние усложняли обнаружение яиц возбудителя трихоцефалеза, снижали четкость их видимости при микроскопии, что связано с незначительной коагуляционной способностью растворов нитрата аммония и кухонной соли. При этом на поверхность флотационных растворов всплывали одновременно яйца трихоцефал и значительная часть остатков корма, которые закрывали видимость части яиц и снижали эффективность копроовоскопии.

Заключение.

1. Предложенный способ прижизненной диагностики трихоцефалеза свиней относится к копроскопическим флотационным методам и обеспечивает высокую степень видимости яиц трихоцефал.
2. Усовершенствованный способ имеет более высокую диагностическую эффективность по сравнению с методами Котельникова-Хренова и Фюллеборна (на 36,4–77,7 % соответственно).
3. Оптимальное время отстаивания проб при использовании усовершенствованного метода составляет 15 минут.

Литература. 1. Атаев А.М. Эпизоотологическая ситуация по паразитозам животных в Дагестане / А.М. Атаев // Ветеринария. – 2002. – № 4. – С. 23–29. 2. Дахно І. Удосконалений спосіб копроовоскопічної діагностики нематодозів свиней / І. Дахно, Г. Дахно, А. Березовський // Ветеринарна медицина України. – 2004. – № 10. – С. 13–14. 3. Дубицкая А.Ф. Инвазированность свиней кишечными нематодами в различных по технологии хозяйствах Белоруссии / А.Ф. Дубицкая // Ветеринарная наука производству. – Мн.: Ураджай, 1988. – № 26. – С. 84–85. 4. Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды / Котельников Г.А. – М.: Росагропромиздат, 1991. – 144 с. 5. Кочагин А.И. Методические рекомендации по планированию диагностических обследований сельскохозяйственных животных на гельминтозы / Кочагин А.И. – М.: Урожай, 1987. – 25 с. 6. Микитин В.Ф. Испытание копроскопических методик диагностики кокцидиозов / В.Ф. Микитин, А.В. Лабинюк // Проблемы зооинженерии та ветеринарної медицини: зб. наук. праць. – Х., 2001. – Вип. 7 (31). – С. 43–44. 7. Мозговой А.А. Трихоцефалез свиней и меры борьбы с ним: дисс. ... канд. вет. наук / А.А. Мозговой. – Харьков, 1939. – С. 65–75. 8. Олехнович Н.И. Трихоцефалез свиней / Н.И. Олехнович, А.И. Ятусевич. – Витебск, 2001. – 98 с. 9. Олехнович Н.И. Ассоциативные паразитозы желудочно-кишечного тракта свиней в Белоруссии и меры борьбы с ними: автореф. дисс. ... канд. вет. наук / Н.И. Олехнович. – Минск, 1990. – 22 с. 10. Петрухин М.Ф. Влияние гельминтозов на формирование поствакцинального иммунитета против лептоспироза свиней / М.Ф. Петрухин, И.Ф. Богуш, Н.Н. Шульга // Матер. докл. научн. конф. "Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями". – М., 2001. – С. 98–104.

11. Рекомендації щодо гельмінтологічних досліджень тварин / [Пономар С.І., Сорока Н.М., Литвиненко О.П. та ін.]. – Біла Церква: РВІКВ БНАУ, 2008. – 77 с. 12. Савельев А.А. Эпизоотологический надзор при нематодозах свиней в промышленном свиноводстве: дисс. ... канд. вет. наук / А.А. Савельев. – Н.Новгород, 2001. – 180 с. 13. Сафиуллин Р.Т. Сравнительная эффективность копроскопических методов диагностики гельминтозов свиней и их усовершенствование на основе стандартизации / Р.Т. Сафиуллин // Тр. всерос. ин-та гельминтологии им. К.И. Скрябина. – М., 2001. – Т. 37. – С. 149–159. 14. Стибель В.В. Аналіз гельмінтологічної ситуації серед свиней в господарствах Львівської області // Науковий вісник ЛНАВМ ім. С.З. Гжицького. – Львів, 2004. – Т. 6 (№ 2), Ч. 1. – С. 98–104. 15. Хренов В. Справочник по клиническим лабораторным методам исследований / В. Хренов. – М.: Колос, 1975. – 318 с. 16. Якубовский М.В. Экономический ущерб при кишечных нематодозах свиней / М.В. Якубовский // Ветеринарная наука – производству. – Минск: Ураджай, 1988. – № 26. – С. 81–83.

Статья передана в печать 02.04.2015 г.

УДК 619.616.993.192

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ТОКСОПЛАЗМОЗА КОЗ В УКРАИНЕ

Галат М.В.

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина

Приведены результаты серологических исследований сывороток крови коз с целью выявления в них антител к возбудителю *Toxoplasma gondii* с использованием тест-систем. Полученные данные позволили выяснить распространение токсоплазмоза среди различных возрастных групп коз в ряде областей Украины, а также зависимость экстенсивности инвазии от пола животного.

The article contains the results of serological investigations on the detection of antibodies to the *Toxoplasma gondii* antigen of goat's blood serum with the help of different test kits. Obtained data shows us spreading of Toxoplasmosis among different goat's age groups in different regions of Ukraine and also dependence of extensiveness of the invasion from the animal's gender.

Ключевые слова: токсоплазмоз, *Toxoplasma gondii*, козы, сыворотка крови, тест-системы.

Keywords: Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, goats, blood serum, test kits.

Введение. Токсоплазмоз – распространенная инвазионная болезнь многих видов животных, а также человека [2,8]. В большинстве случаев она протекает хронически [13]. Наличие возбудителя заболевания зафиксировано среди более 400 видов млекопитающих и птиц. Источником инвазии для человека, в основном, являются кошки и продуктивные животные. Исследователи подтверждают возможность передачи возбудителя заболевания через употребление недостаточно термически обработанного мяса больных животных [9,15], а также непастеризованного молока [10]. Токсоплазм выявляли в молоке от крупного рогатого скота, овец и коз [4,6].

Широкое распространение токсоплазмоза обусловлено наличием бродячих котов – дефинитивных хозяев возбудителя, а также значительной репродуктивной способностью паразитических организмов. Важное значение имеют исключительная стойкость во внешней среде ооцист, а также инвазионность всех стадий жизненного цикла токсоплазм для многих животных. В организме промежуточных хозяев цисты остаются жизнеспособными практически в течение всей их жизни. Характерными особенностями токсоплазмозной инвазии являются значительное количество источников, путей заражения и факторов передачи паразитических организмов.

Клинические признаки токсоплазмоза наиболее часто регистрируют среди мелкого рогатого скота, а также свиней. У многих других видов животных течение болезни протекает, в основном, в латентной форме. У мелкого рогатого скота болезнь нередко является основной причиной абортос и мертворождений, что вызывает большой экономический ущерб [3, 7, 12]. При этом ее необходимо дифференцировать от других заболеваний, вызываемых такими возбудителями, как *Chlamydomphila abortus*, *Coxiella burnetii*, *Brucella melitensis*, *Campylobacter fetus fetus* и *Salmonella spp.*

Для диагностики заболевания используются различные методы. Посмертно диагноз ставят при помощи биопробы на лабораторных мышцах. С этой целью используют ткани абортос или мертворожденных плодов мелкого рогатого скота (овцы, козы). Ткани животных можно исследовать на наличие *Toxoplasma gondii* при помощи полимеразной цепной реакции. Прижизненный диагноз ставят путем исследования сыворотки крови подозрительных животных с помощью серологических методов. К ним относят иммунофлюоресцентный, иммунохроматографический, прямой агглютинации, латексной агглютинации, а также иммуноферментный анализ (ИФА). Метод ИФА имеет ряд преимуществ. Это возможность одновременного анализа большого количества образцов, а также отсутствие человеческого фактора в интерпретации результатов теста. На сегодняшний день существует значительное количество тест-систем разных фирм-производителей, которые базируются на данном методе исследований. Такой метод исследований позволяет выявлять специфические токсоплазменные антитела иммуноглобулинов классов G и M, что дает возможность в дальнейшем различать характер течения заболевания (острое или хроническое) [11].

В настоящее время возбудитель *T. gondii* обнаружен среди животных в подавляющем большинстве стран мира. Так, на территории европейских государств экстенсивность вызванного им заболевания среди коз колеблется от 12% в Италии до 77 % – в некоторых провинциях Франции [14]. Многочисленными

исследованиями установлено, что количество животных положительно реагирующих на возбудителя *T. gondii* увеличивается с их возрастом [1,5].

Цель работы – установить распространение токсоплазмозной инвазии среди коз на территории ряда центральных областей Украины.

Материалы и методы исследований. Исследования коз проводили в течение 2013 года в хозяйствах с различной формой собственности на территории Кировоградской (85 животных), Полтавской (13), Днепропетровской (10) и Житомирской областей Украины (14). Для проведения опытов использовали сыворотку крови от 122 коз зааненской и других молочных пород, возрастом от 6 месяцев до 7 лет. Наличие антител к возбудителю *T. gondii* в крови выявляли с помощью различных тест-систем по методу двухстадийного твердофазного иммуноферментного анализа с применением антигена к возбудителю токсоплазмоза. В частности, для этой цели были использованы наборы реагентов иммуноферментного выявления суммарных антител к *Toxoplasma gondii* «ВектоТоксо-антитела» (производитель – ЗАО «Вектор-бест», Российская Федерация) и «ID Screen TOXOS-MS» (производитель – «ID.vet», Франция). Полученные результаты оценивали в соответствии с требованиями и протоколами проведения исследований производителей данных систем. Так, на первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы инкубировали с иммобилизованным на поверхности лунок планшета антигеном *T. gondii*. При этом имеющиеся в анализируемых образцах антитела к токсоплазмам связывались с антигеном, формируя комплекс антиген-антитело. На второй стадии связавшиеся антитела взаимодействовали с конъюгатом антигена *T. gondii* на основе пероксидазы хрена. Комплекс «антиген-антитело-конъюгат» выявляли реакцией с тетраметилбензидином. После добавления стоп-реагента измеряли оптическую плотность растворов в лунках. Интенсивность окрашивания была пропорциональной количеству связанных комплексом антител к токсоплазмам в сыворотке крови животных.

Результаты исследований. Впервые в Украине установлено наличие антител к *T. gondii* среди сывороток крови коз. С этой целью было исследовано при помощи тест-системы «ВектоТоксо-антитела» 108 образцов сыворотки крови, а с помощью «ID Screen TOXOS-MS» – 14. При определении распространенности заболевания с использованием разных тест-систем положительными к возбудителю *T. gondii* оказались 105 животных или 86,07 %. В 17 пробах сывороток крови (13,93 %) получили отрицательный результат.

Среди исследованных 110 проб сывороток крови самок коз положительными оказались 94 (85,45 %), остальные 16 животных (14,55 %) – отрицательными. Аналогичные результаты получены в результате обнаружения антител в сыворотках крови от 12 самцов. В 11 животных (91,67 %) были выявлены антитела к токсоплазмам. Только у одного животного (8,33 %) результаты исследований оказались отрицательными. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что между самцами и самками коз разница по выявлению в сыворотке их крови антител к возбудителю токсоплазмоза была незначительной.

Важными являются данные, касающиеся изменений экстенсивности токсоплазмозной инвазии животных, в том числе и коз, в зависимости от их возраста. С возрастом происходит увеличение показателей экстенсивности. Так, из 18 коз в возрасте до одного года положительно прореагировали на наличие антител к возбудителю токсоплазмоза 10 животных (55,56 %). Остальные 8 (44,44 %) показали отрицательный результат (таблице 1). Среди исследованных 71 сывороток крови животных в возрасте от одного до трех лет положительными оказались 65 (91,55 %), а отрицательными – 6 (8,45 %). В сыворотках крови 20 животных в возрасте от трех до пяти лет антитела зарегистрированы среди 18 коз (90 %), а отрицательные результаты получены у 2 (10 %) животных. В группе животных от пяти до семи лет положительно прореагировали на наличие антител к токсоплазмам в сыворотке крови 11 коз (84,62 %), отрицательно – 2 или 15,38 %. Полученные результаты свидетельствуют об увеличении интенсивности токсоплазмозной инвазии с возрастом животных.

Таблица 1 – Экстенсивность токсоплазмоза в зависимости от возраста коз, n = 122

Группы животных	Количество животных в группе	Реакция на токсоплазмоз			
		положительная		отрицательная	
		количество животных	в %	количество животных	в %
До 1 года	18	10	55,56	8	44,44
От 1 до 3 лет	71	65	91,55	6	8,45
От 3 до 5 лет	20	18	90	2	10
От 5 до 7 лет	13	11	84,62	2	15,38

Токсоплазмоз коз имеет значительное распространение на территории Украины. Так, по результатам проведенных исследований сывороток крови было установлено, что экстенсивность токсоплазмозной инвазии среди коз Житомирской и Полтавской областей достигает 100% (рисунок 1). Более низкие показатели экстенсивности инвазии были зарегистрированы среди животных Кировоградской области (84,71%). Положительно прореагировали на наличие антител к токсоплазмам 60% животных в Днепропетровской области.

С целью выявления эффективности тест-систем разных производителей был поставлен опыт на 14 животных. При этом проведено параллельное исследование сывороток крови в обеих системах от 7 положительных и 7 отрицательно реагирующих коз в предыдущих опытах на наличие в их организме антител к токсоплазмам. Также сравнивали результаты исследований этих сывороток с положительными и отрицательными контролями обеих тест-систем в соответствии с инструкциями фирм-производителей. В результате установлено 100 %-ное соответствие полученных результатов в обеих тест-системах, что свидетельствует о правильной интерпретации результатов постановки диагноза на данное заболевание.

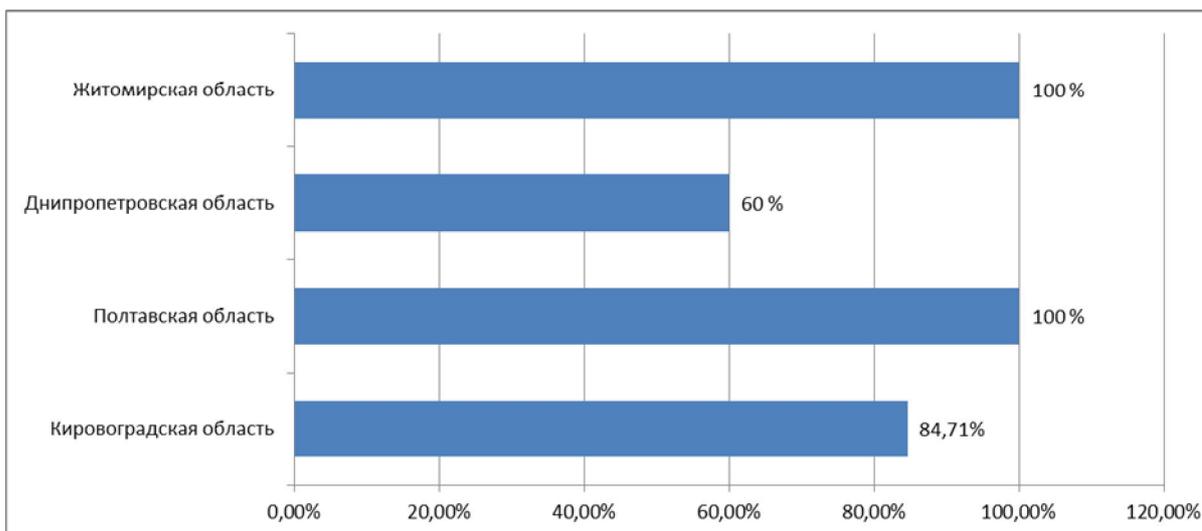


Рисунок 1 – Распространение токсоплазмозной инвазии среди коз в хозяйствах некоторых областей Украины

Заключение. 1. Токсоплазмоз – распространенное инвазионное заболевание коз в Украине.

2. 86,07 % коз в хозяйствах 4 центральных областей Украины положительно реагируют на наличие антител в сыворотках их крови к возбудителю токсоплазмоза *Toxoplasma gondii*. Экстенсивность инвазии колеблется от 60 % (Днепропетровская область) до 100 % (Житомирская и Полтавская области).

3. Не зарегистрировано существенной разницы в наличии антител к возбудителю токсоплазмоза в сыворотке крови самцов (91,67%) и самок (85,45%) обследованных животных.

4. Минимальная экстенсивность инвазии была зарегистрирована среди животных в возрасте до одного года (55,56 %). Среди старших по возрасту животных наблюдали ее увеличение до 91,55 %.

5. При параллельных исследованиях с использованием положительных и отрицательных сывороток крови коз в обеих тест-системах была установлена 100 %-ная идентичность полученных результатов.

Литература. 1. Березоєвський А.В. Епізоотологія та діагностика токсоплазмозу кіз /А.В. Березоєвський, М.В. Галат, Л.В. Небещук, Д.Ю. Рибальченко// Вісник Полтавської державної аграрної академії, 2013. – №2. – С. 89-91. 2. Alvarado-Esquivel C. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in dairy goats in Michoacán State, Mexico /C. Alvarado-Esquivel, D. Silva-Aguilar, I. Villena, J.P. Dubey// J. Parasitol., 2013. – № 99(3). – P. 540-542. 3. Costa A.J. Isolation of *Toxoplasma gondii* from goat semen /A.J. Costa// Abstract book WAAVP Congress, Ghent, 2007. – P. 280. 4. Dehkordi F.S. Detection of *Toxoplasma gondii* in raw caprine, ovine, buffalo, bovine, and camel milk using cell cultivation, cat bioassay, capture ELISA, and PCR methods in Iran /F.S. Dehkordi, M.R. Borujeni, E. Rahimi, R. Abdizadeh// Foodborne Pathog. Dis., 2013. – №10(2). – P. 120-125. 5. Dubey J.P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in dairy goats from 1982 to 1984 /J.P. Dubey, D.S. Adams// J. Am. Vet. Med. Assoc. – 1990. – Vol. 196 (2). – P. 295-296. 6. Glor S.B. Evaluation of a commercial ELISA kit for detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* in serum, plasma and meat juice from experimentally and naturally infected sheep /S.B. Glor, R. Edelhofer, F. Grimm, P. Deplazes, W. Basso// Parasit. Vectors, 2013. – №6. – P. 85. 7. Hill D.E. *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States /D.E. Hill, J.P. Dubey// Int. J. Parasitol., 2013. – №43(2). – P. 107-113. 8. Lehmann T. Globalization and the population structure of *Toxoplasma gondii* /T. Lehmann, P.L. Marcat, D.H. Graham, E.R. Dahl, J.P. Dubey// Proceed. Nat. Academy Sc. USA., 2006. – Vol. 103(30). – P. 423-428. 9. Lopes A.P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep, goats and pigs from the North of Portugal for human consumption /A.P. Lopes, J.P. Dubey, F. Neto, A. Rodrigues, T. Martins, M. Rodrigues, L. Cardoso// Vet. Parasitol., 2013. – №193(1-3). – P. 266-269. 10. Mancianti F. Seroprevalence, detection of DNA in blood and milk, and genotyping of *Toxoplasma gondii* in a goat population in Italy /F. Mancianti, S. Nardoni, C. D'Ascenzi, F. Pedonese, L. Mugnaini, F. Franco, R. Papini// Biomed Res. Int., 2013. – №2013. – 6p. 11. OIE Terrestrial Manual / Chapter: Toxoplasmosis. – 2008. – P. 1284-1293. 12. Smith M.C. Goat medicine. Second edition /M.C. Smith, D.M. Sherman// ISBN: 978-0-781-79643-9. – Wiley-Blackwell. – 2009. – P. 823-824. 13. Stormoen M. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Norwegian dairy goats /M. Stormoen, J. Tharaldsen, P. Hopp// Acta Vet. Scand., 2012. – №54. – P. 75. 14. Tenter A.M. *Toxoplasma gondii*: from animal to humans /A.M. Tenter, A.R. Heckerth, L.M. Weiss// Int. J. Parasitol., 2000. – №30. – P. 1217-1258. 15. Tzanidakis N. *Toxoplasma gondii* in sheep and goats: seroprevalence and potential risk factors under dairy husbandry practices /N. Tzanidakis, P. Maksimov, F.J. Conraths, E. Kioussis, C. Brozos, S. Sotiraki, G. Schares// Vet. Parasitol., 2012. – №190(3-4). – P. 340-348.

Статья передана в печать 17.03.2015 г.

УДК 619.5:6616-085.636.5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ИЗОЛЯТОВ *SAMPYLOBACTER* SPP. К АНТИБИОТИКАМ

Гладченко С.М.

Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

В статье изложены результаты исследований штаммов *Sampylobacter* spp., выделенных из продуктов убоя птицы и КРС, а также оборудования убойных цехов. Исследуемые штаммы кампилобактерий чувствительны к эритромицину, ципрофлоксацину, тетрациклину, гентамицину, норфлоксацину и цефалексину.

The article presents the results of studies of strains Campylobacter spp., isolated from the products of slaughter poultry and cattle, as well as equipment slaughterhouses. Campylobacter strains studied are sensitive to erythromycin, ciprofloxacin, tetracycline, gentamicin, norfloxacin and cefalexin.

Ключевые слова: кампилобактериоз, изоляты, продукты убоя, чувствительность, антибиотики.
Keywords: campylobacteriosis, isolates, products slaughter, sensitivity, antibiotics.

Введение. Кампилобактериоз (Campylobacteriosis) (син.: вибриоз) – это инфекционная болезнь птицы, что характеризуется течением у форме энтерита, гепатита, септицемии и интоксикации. Болезнь является зооантропонозом.

Кампилобактерии идентифицированы в 1913 году учёными Дж. МакФадиеном и С. Стокманом. Они являются термофильными бактериями семейства *Spirillaceae*, тонкие, спирально изогнутые, полиморфные, грамтрицательные палочки, капсул и спор не образуют. Для оптимального роста нужны микроаэрофильные условия с определенным газовым составом (5% O₂, 10% CO₂ и 85% N₂) и температурой от +37 до +42 °С, pH 7,0 [3].

Основным резервуаром кампилобактерий в природе являются куры, индюки, дикie птицы, грызуны, а также – крупный рогатый скот, овцы, козы и свиньи. Бройлеры могут быть инфицированными до 90%, индюки – до 100%, утки – до 88%, и при этом клинические признаки не проявляются [2].

Источником инфекции является переболевшая и больная птица, а также латентные бактерионосители. Инфицирование зачастую происходит алиментарным путем через поилки, кормушки, подстилку, инвентарь, инфицированные корма и воду. Важным звеном эпизоотической цепи являются инфицированные тараканы, мухи, грызуны, дикая и синантропная птица [1].

Кампилобактериоз крайне распространен и среди людей, а в особенности детей во всех странах мира. Кампилобактерии вызывают от 5 до 10% всех острых бактериальных диарейных болезней. У жителей экономически развитых стран заболеваемость кампилобактериозом составляет 20-60 случаев на 100 тыс. населения. На сегодняшний день частые случаи заболеваемости кампилобактериозом регистрируют в Украине, США, Финляндии, Норвегии, Швеции, Дании, Исландии, Великобритании [3].

Материалы и методы исследований. Работа проводилась на кафедре ветсанэкспертизы, микробиологии, зоогигиены, безопасности и качества продуктов животноводства факультета ветеринарной медицины Сумского НАУ.

Материалом для исследований были изоляты *S. jejuni* (6 штаммов), *S. coli* (4 штамма), которые предварительно нами были выделены из продуктов убоя птицы и оборудования убойных цехов, *S. fetus* (4 штамма) – выделенный из продуктов убоя КРС.

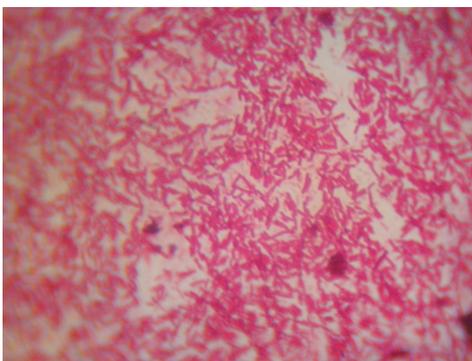


Рисунок 1 – Морфология изолятов *Campylobacter spp.* в мазке, окрашеном фуксином Пфейфера в разведении 1:5, (ок. 10, об. 90)

Исследования проводились согласно Методическим указаниям «МВ 9.9.5-143-2007 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» диско-диффузійним методом, используя стандартные диски с антибиотиками [4].

Культуры *Campylobacter* высевали на плотную питательную среду для кампилобактерий (ООО «Бровафарма», г. Бровары, Украина), инкубировали в термостате при температуре 42 °С 18–24 часа в микроаэрофильных условиях. Из односуточных культур микроорганизмов готовили завесь в концентрации 500 млн. микробных тел в 1 см³ по оптическому стандарту микробиологическому (ГНКИБШМ, г. Киев, Украина).

Приготовленную суспензию микроорганизмов в объеме 0,3 см³ наносили на поверхность плотной питательной среды. На поверхность среды с помощью стерильного пинцета наносили стандартные диски с антибиотиками. Чашки Петри помещали в термостат и инкубировали на протяжении 24 часов при температуре 37,5 °С. При измерении зон задержки роста ориентировались на зону полной задержки видимого роста культур.

Результаты исследований. Анализируя полученные результаты, следует отметить, что чувствительность исследованных штаммов *S. jejuni*, *S. coli* и *S. fetus* достаточно вариабельны (рисунки 2-4).

Изоляты *Campylobacter jejuni* были высокочувствительными к эритромицину, ципрофлоксацину и гентамицину; *Campylobacter coli* – к норфлоксацину и тетрациклину; *Campylobacter fetus* – к ципрофлоксацину и цефазолину;

Также регистрировали среднюю чувствительность исследуемых штаммов кампилобактерий к антибактериальным препаратам: *Campylobacter jejuni* – к пенициллину, цефалексину, цефтриаксону и рифампицину; *Campylobacter coli* – к эритромицину, ципрофлоксацину и пенициллину; *Campylobacter fetus* – к цефтриаксону, эритромицину и гентамицину;

Изоляты *Campylobacter jejuni* были слабочувствительными к стрептомицину, цефазолину и амоксицилину; *Campylobacter coli* – к стрептомицину, цефтриаксону и амоксицилину; *Campylobacter fetus* – к цефалексину, стрептомицину, пенициллину, рифампицину и амоксицилину.

Результаты определения чувствительности изолятов микроорганизмов рода *Campylobacter* к антибактериальным препаратам приведены в таблицах 1-3.

Таблица 1 – Чувствительность *C. jejuni*, выделенных из продуктов убоя птицы и оборудования убойных цехов, к антибиотикам, n = 6

Антибиотик	Содержимое препарата в диске, мкг	Количество штаммов <i>C. jejuni</i> , %		
		слабо-чувствительные (≤ 11 мм)	средне-чувствительные (12-17 мм)	высоко-чувствительные (≥ 19 мм)
стрептомицин	10	83,4	16,6	0
ципрофлоксацин	5	0	16,6	83,4
пенициллин	6	66,6	33,4	0
цефалексин	30	50	33,3	16,7
норфлоксацин	10	16,7	16,7	66,6
цефазолин	30	83,4	16,6	0
цефтриаксон	30	50	50	0
эритромицин	15	0	0	100
рифампицин	5	0	33,4	66,6
гентамицин	10	16,6	0	83,4
амоксицилин	10	83,4	16,6	0
тетрациклин	30	16,7	16,7	66,6

Таблица 2 – Чувствительность *C. coli*, выделенных из продуктов убоя птицы и оборудования убойных цехов, к антибиотикам, n = 4

Антибиотик	Содержимое препарата в диске, мкг	Количество штаммов <i>C. coli</i> , %		
		слабо-чувствительные (≤ 11 мм)	средне-чувствительные (12-17 мм)	высоко-чувствительные (≥ 19 мм)
стрептомицин	10	75	25	0
ципрофлоксацин	5	0	50	50
пенициллин	6	50	50	0
цефалексин	30	50	25	25
норфлоксацин	10	25	0	75
цефазолин	30	50	25	25
цефтриаксон	30	75	25	0
эритромицин	15	0	50	50
рифампицин	5	25	25	50
гентамицин	10	25	25	50
амоксицилин	10	75	0	25
тетрациклин	30	0	25	75

Таблица 3 – Чувствительность *C. fetus*, выделенных из продуктов убоя КРС, к антибиотикам, n = 4

Антибиотик	Содержимое препарата в диске, мкг	Количество штаммов <i>C. fetus</i> , %		
		слабо-чувствительные (≤ 11 мм)	средне-чувствительные (12-17 мм)	высоко-чувствительные (≥ 19 мм)
стрептомицин	10	50	25	25
ципрофлоксацин	5	0	0	100
пенициллин	6	50	25	25
цефалексин	30	100	0	0
норфлоксацин	10	0	25	75
цефазолин	30	0	0	100
цефтриаксон	30	0	50	50
эритромицин	15	0	75	25
рифампицин	5	50	0	50
гентамицин	10	0	50	50
амоксицилин	10	50	25	25
тетрациклин	30	0	25	75

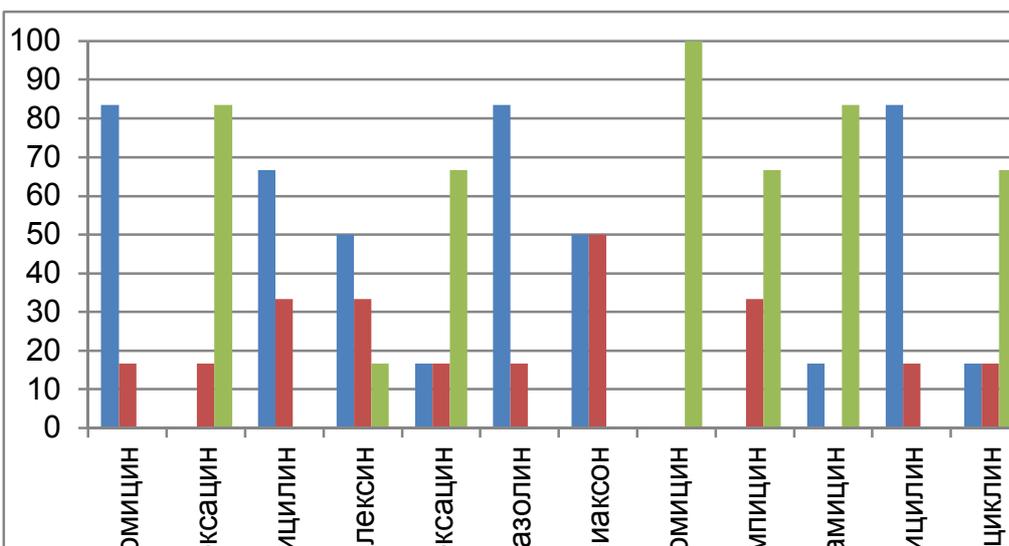


Рисунок 2 – Чувствительность *C. jejuni* к антибиотикам, % от числа исследуемых изолятов

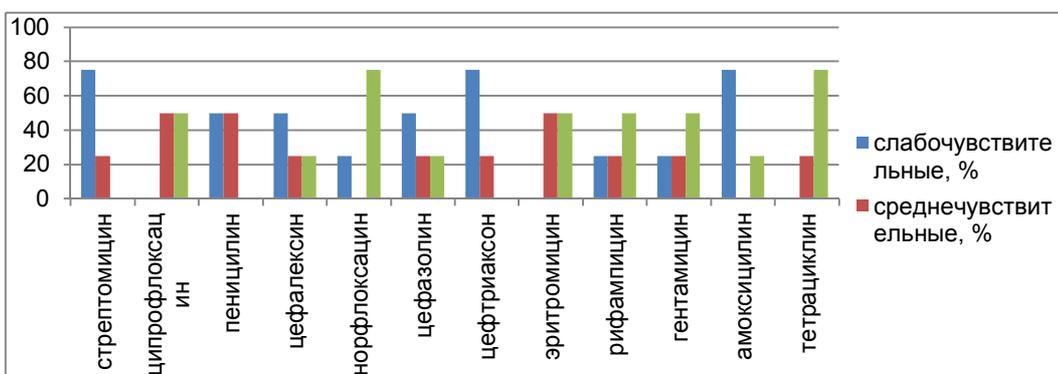


Рисунок 3 – Чувствительность *C. coli* к антибиотикам, % от числа исследуемых изолятов

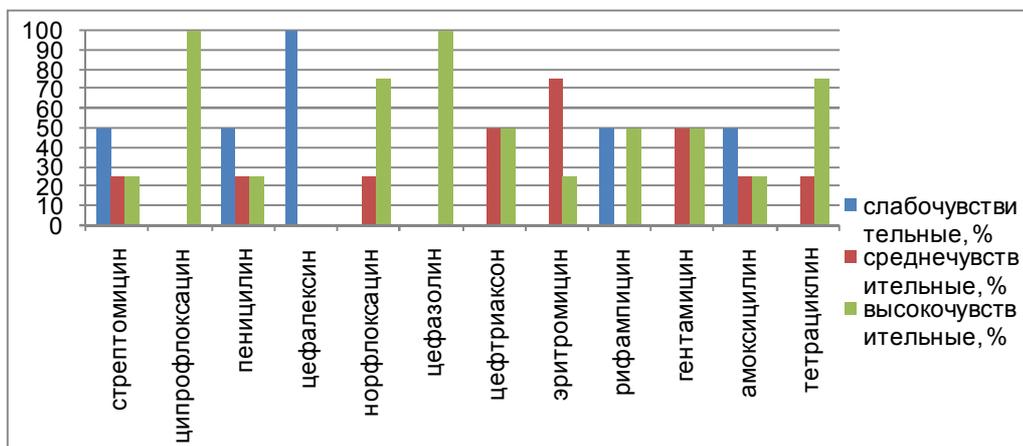


Рисунок 4 – Чувствительность *C. fetus* к антибиотикам, % от числа исследуемых изолятов

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что:

1. Изоляты штаммов *Campylobacter jejuni*, выделенные из продуктов убоя птицы и оборудования убойных цехов, высокочувствительные к таким антибиотикам, как эритромицин (100 %), гентамицин и ципрофлоксацин (83,4 %).
2. Изоляты штаммов *Campylobacter coli*, выделенные из продуктов убоя птицы и оборудования убойных цехов, высокочувствительные к норфлоксацину и тетрациклину (75 %).
3. Изолированные штаммы *Campylobacter fetus*, выделенные из продуктов убоя КРС, высокочувствительные к ципрофлоксацину и цефазолину (100 %), норфлоксацину и тетрациклину (75 %).

Литература. 1. Березовський А.В. Хвороби птиці. Навч. посібник / А.В. Березовський, В.В. Герман, Т.І. Фотіна, Г.А. Фотіна. – К.: ТОВ «ДІА», 2012. – С. 171-172. 2. Касяненко О.І. Визначення чутливості мікроорганізмів *Campylobacter jejuni* до антибіотиків диско-дифузійним методом / О.І. Касяненко, Т.І. Фотіна // Збірник наукових праць ЛНАУ. Серія «Ветеринарна медицина». – Луганськ, 2010. - №18. – С. 49-52. 3. Леженко Г.О. Кампіобактеріоз у дітей: сучасні уявлення про

етиопатогенез, клінічну картину, можливості діагностики, підходи по лікуванню / Г.О. Леженко, О.В. Усачова, Т.М. Пахольчук, Є.А. Сіліна, Р.М. Гінзбург // Дитячий лікар. – 2013. - №6 (27). – С. 33-38. 4. МВ 9.9.5-143-2007 Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Методичні вказівки.

Статья передана в печать 23.04.2015 г.

УДК 619:614.48.

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ, БИОЦИДНЫХ И КОРРОЗИОННЫХ СВОЙСТВ НОВОГО ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА ДЕЗОКСИВЕТ

Готовский Д.Г.

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

Для санации систем водоснабжения и обеззараживания воды в птичниках предложен новый препарат на основе органических кислот и перекиси водорода, который обладает выраженным бактерицидным действием и не токсичен для птиц при длительном использовании.

For sanitation of the water and disinfection of water systems in poultry houses new preparation offers on the basis of organic acids and peroxigen, that possesses the expressed bactericidal action and not toxic for birds at the protracted use.

Ключевые слова: птичники, цыплята-бройлеры, дезинфекция, санация воды и систем водоснабжения, токсичность, перекись водорода, органические кислоты.

Keywords: poultry houses, chickens-broilers, disinfection, sanitation of water and water systems, toxiness, peroxigen, organic acids.

Введение. На современном этапе развития отрасли птицеводства Республики Беларусь предусматривает промышленное содержание птицы в условиях крупных птицеводческих предприятий. Следует отметить, что для поддержания эпизоотического благополучия на птицефабриках проводится комплекс ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на профилактику инфекционных болезней птиц, неотъемлемой частью которого является дезинфекция. Основная задача дезинфекции - разрыв эпизоотической цепи путём уничтожения возбудителей инфекционных болезней во внешней среде [1, 2, 3, 8, 9].

Для проведения дезинфекции на животноводческих и птицеводческих предприятиях применяется довольно большой арсенал дезинфицирующих средств. Однако их действующие вещества относятся к относительно небольшой группе химических соединений. Так, в производственных условиях чаще всего применяют традиционные препараты: альдегиды (формалин и его производные, глутаровый альдегид), едкий натр, однохлористый йод, хлорсодержащие дезсредства и некоторые др. Однако многолетнее использование одних и тех же традиционных дезинфицирующих средств привело к появлению резистентных к их воздействию штаммов микроорганизмов, грибов и вирусов. Следует отметить, что многие из препаратов потенциально опасны для окружающей среды, что связано с содержанием в них ксенобиотиков (альдегиды, хлор, производных карболовой кислоты (фенолы) и др.) или агрессивны по отношению к производственному оборудованию (щёлочи, препараты на основе йода, хлора и их производные) [3, 4, 5, 7, 8, 9, 10]. Поэтому, с целью повышения качества проведения дезинфекции в условиях современных животноводческих предприятий возникает необходимость в создании малотоксичных, биоразлагаемых во внешней среде и не агрессивных дезинфицирующих средств отечественного производства. Вышеуказанным критериям безопасности, предъявляемым к дезинфицирующим средствам, отвечают препараты из группы окислителей, содержащие в качестве активного действующего вещества - перекись водорода или её производные. В отличие от других групп химических дезинфицирующих веществ эти препараты обладают рядом преимуществ: низкая токсичность, быстрая разлагаемость во внешней среде на нетоксичные компоненты, отсутствие привыкания к ним микроорганизмов, наличие широкого спектра биоцидного действия [5, 8, 10].

Материал и методы исследований. Исследования проводились в четыре этапа. На первом этапе изучалась токсичность и коррозионная активность дезинфицирующего средства - дезоксивет, разработанного на основе перекиси водорода, стабилизированной комплексом органических кислот (винной, лимонной и янтарной). В частности исследовались: острая и хроническая токсичность при введении в желудок, острая и хроническая ингаляционная токсичность, местное раздражающее действие на кожные покровы, слизистые оболочки и орган зрения; кожно-резорбтивное действие и сенсibilизирующая активность. Изучение токсичности проводили на линейных белых мышах, морских свинках и кроликах. Опытные и контрольные группы формировались по принципу аналогов. Токсикологическую оценку дезинфицирующего средства проводили согласно «Методическим указаниям по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии», утверждены Главным управлением ветеринарии с Государственной ветеринарной и Государственной продовольственной инспекциями Минсельхозпрода Республики Беларусь 16.03.2007, № 10-1-5/198.

Острую токсичность дезинфицирующего средства при введении в желудок изучали на клинически здоровых белых мышах, которым принудительно вводился концентрированный раствор дезсредства в виде водного раствора в следующих дозах: 1-я группа – 7000 мг/кг; 2-я – 6000 мг/кг; 3-я – 5000 мг/кг; 4-я – 4000 мг/кг; 5-я – 3000 мг/кг. Одна из групп животных служила в качестве контроля и получала эквивалентное количество водопроводной воды. Для оценки токсического действия препаратов использовали статистически точную

величину ЛД₅₀ (среднесмертельная доза), представляющую собой количество вещества, вызывающее гибель 50% подопытных животных, выраженную в мг/кг.

Для изучения хронической токсичности дезинфицирующего средства при внутрижелудочном введении, мышам опытных групп в течение 16 дней вводили препарат в дозах 1/10 Д₅₀ и 1/20 ЛД₅₀. Животным контрольной группы в равном объеме вводили воду. После окончания опыта проводили эвтаназию опытных и контрольных особей и определяли ОКМ (относительные коэффициенты массы) внутренних органов подопытных мышей (сердца, печени, почек, лёгких).

Острую ингаляционную токсичность изучали при воздействии разовой концентрации аэрозолей 3 и 5%-ных растворов препарата методом статической затравки, по насыщающей концентрации. Было сформировано 3 группы белых мышей (две опытных и одна контрольная по 6 мышей в каждой). Животных помещали на 4 часа в герметично закрытый эксикатор, в который предварительно вводили аэрозоль рабочих растворов дезсредства. В период опыта, а затем в течение 16 суток наблюдали за клиническими признаками отравления. Хроническую ингаляционную токсичность изучали путём хронической двухнедельной затравки 6-ти белых мышей 3%-ным рабочим раствором препарата. Животных помещали на 2 часа в герметично закрытый эксикатор, животные контрольной группы (6 мышей) помещались в пустой эксикатор. О токсическом действии судили по изменению массы тела и состоянию нервной системы. По окончании опыта проводилась эвтаназия мышей и морфологические исследования внутренних органов.

Оценку местно-раздражающего действия дезинфицирующего средства на кожные покровы изучали на 6-ти кроликах на выстриженные участки 2х3 см кожи которых наносили 3%-ный раствор препарата в объеме 0,1-0,2 мл, а на симметричные участки кожи – воду. Экспозиция дезинфицирующего средства на коже составляла 4 часа. О наличии раздражающих свойств судили по появлению на месте аппликации гиперемии, отека, утолщения кожной складки и расчесов, болезненности участка при пальпации. Реакцию кожи учитывали у каждого кролика через 1, 16, 24, 48 и 72 часа по отношению к симметричному участку кожи (контроль). Исследование раздражающего действия на слизистые оболочки глаз 3%-ного раствора дезинфицирующего средства проводили на 6-ти кроликах методом конъюнктивальных проб.

Кожно-резорбтивное и сенсibiliзирующее действие (аллергенную способность) дезинфицирующего средства изучали методом накожных аппликаций морским свинкам. Сенсibiliзацию проводили ежедневными (в течение 20-ти дней подряд) аппликациями 3%-ного раствора препарата (0,1 мл на 4 часа) на один и тот же выстриженный участок кожи размером 2х3 см. Контрольным группам животных применяли дистиллированную воду. О наличии аллергенных свойств судили по развитию на месте аппликации эритемы, отека и величине отека кожи у животных опытной группы по сравнению с животными контрольной группы.

На втором этапе определяли коррозионные свойства дезинфицирующего средства по отношению к образцам металлов (листовая сталь марки Ст-3, алюминий марки А и оцинкованная жель) размером 50×20×1 мм. О степени коррозионных свойств судили по изменению веса металла в результате коррозии, отнесенному к единице поверхности (потеря массы, Δm) и единице времени (скорость коррозии, К). В качестве контроля использовали водопроводную воду. Для проведения испытаний образцы металлов погружались в сосуды с дезинфицирующим раствором и водопроводной водой на 8 суток. До и после погружения образцы взвешивались [7].

На третьем этапе проводилось определение биоцидных свойств качественным суспензионным методом [6]. Исследованию подвергали 0,5-3,0% растворы дезинфицирующего средства, которые добавляли к суспензиям тест-культур санитарно-показательных микроорганизмов (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Streptococcus pyogenes* и *Pseudomonas aeruginosa*), относящихся к 1-ой и 2-ой группам устойчивости к дезинфицирующим средствам. Для приготовления суспензий использовали суточные культуры вышеуказанных микроорганизмов, которые смывали стерильным физиологическим раствором и доводили до концентрации 1 миллиард микробных тел в 1 мл. К 0,1 мл испытуемой суспензии каждого тест-микроба добавляли 9,9 мл испытуемого препарата в изучаемых концентрациях. Также, проводились дополнительные испытания бактерицидных свойств препарата в условиях имитации органического загрязнения, для чего в суспензию каждого из микроорганизмов вводилось 20% от общего объёма лошадиной сыворотки. Время экспозиции суспензии и дезинфицирующего средства в различных разведениях составляло 15, 30, 60, 120 и 180 мин. После чего из каждой опытной пробирки бралось по 0,1 мл разведения. К нему добавлялось равное количество нейтрализатора (1%-е стерильные растворы пищевой соды и тиосульфата натрия). Затем 0,1 мл смеси суспензии с нейтрализатором переносилось в чашки Петри с элективными питательными средами (МПА, солевой агар, Висмутсульфитный агар, Левина, Эндо, КОДА, диагностические подложки фирмы Rida@count) и инкубировалось в термостате. Об эффективности дезинфицирующего средства судили по наличию роста колоний тест-микроорганизмов на поверхности плотных питательных сред и изменению цвета среды КОДА.

На четвёртом этапе изучалась эффективность бактерицидного действия препарата при проведении дезинфекции системы водоснабжения в период санации птичников и в процессе выращивания птиц. Бактериологический контроль качества дезинфекции проводили по степени общего микробного загрязнения воды и наличию в ней общих колиформных бактерий.

Результаты исследований. Было установлено, что дезинфицирующее средство при однократном внутрижелудочном введении относится к 4 классу опасности, согласно ГОСТ 12.1.007–76 (вещества малоопасные), с величиной ЛД₅₀ для белых мышей 5700 мг/кг. Дезсредство также не обладает хронической токсичностью при многократном внутрижелудочной введении. Так, после убоя лабораторных животных статистически достоверных изменений в показателях ОКМ внутренних органов у опытных мышей по сравнению с контрольными животными не отмечено. Однократная и хроническая затравка аэрозолями 3 и 5%-ных растворов препарата не оказывали влияние на организм животных, массу тела и не вызывали патолого-морфологических изменений в органах дыхательной системы. Рабочие (до 3%) растворы препарата не оказывали местного раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки глаз, не обладали кожно-резорбтивным и сенсibiliзирующим действием при длительном нанесении на кожные покровы.

При изучении коррозионных свойств отмечено, что препарат оказывает умеренное коррозионное действие на образцы металлов из стали и оцинкованной жести и слабое коррозионное действие на образцы из алюминия. Так, потеря массы пластин из стали, оцинкованной жести и алюминия, подвергшихся воздействию дезинфицирующего средства, составляла 47,42, 70,18 и 15,42 г/м² соответственно против 0,91-40,93 г/м² в образцах, находящихся в водопроводной воде. Скорость коррозии при воздействии дезинфицирующего средства на образцы металлов составила 1,93 (алюминий); 5,93 (сталь) и 8,77 (жесть) г/м² x сутки против 0,11-6,46 г/м² x сутки у контрольных пластин, помещённых в водопроводную воду.

При проведении испытаний биоцидных свойств отмечено, что дезинфицирующее средство обладает выраженным бактерицидным действием в отношении вышеуказанных санитарно-показательных тест-бактерий при концентрации рабочих растворов не менее 0,5% и экспозиции не менее 15 мин, для возбудителей инфекционных болезней, относящихся к 1 группе устойчивости к дезинфицирующим средствам (*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*). Увеличение концентрации дезсредства до 1% и экспозиции до 1,5 ч инактивировало тест-бактерий, относящихся ко 2-ой группе устойчивости (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* и *Pseudomonas aeruginosa*).

Производственные испытания дезсредства проводили в условиях бройлерной птицефабрики. Вначале проводили дезинфекцию систем поения в птичнике, освобождённом от птиц. Препарат вводили в линии поения в виде 1, 2 и 3% растворов. В одну из линий поения вводили дезинфицирующее средство - аналог (перкат) в виде 3%-ного раствора. Экспозиция дезинфицирующих средств после заполнения линий поилок - 3 ч. Одна из линий поилок в птичнике являлась контрольной и заполнялась водопроводной водой. Контроль качества дезинфекции проводили по степени общей микробной обсеменённости воды и наличия в ней бактерий группы кишечной палочки.

Было установлено, что общая микробная обсеменённость воды после проведения санации составила 2, 4 и 10 КОЕ/мл соответственно при использовании 3%, 2% и 1% рабочих растворов. Наличие бактерий группы кишечной палочки при использовании 1-3%-ных рабочих растворов испытуемого препарата в исследуемой воде не обнаружено. Общее количество микроорганизмов в исследуемой воде системы поения после санации препаратом перкат составило 10 КОЕ/мл.

Наличия кишечной палочки в исследуемой воде из линий поения после санации не обнаружено. При бактериологическом исследовании воды из контрольной линии отмечено наличие в ней бактерий группы кишечной палочки. Содержание общего количества микрофлоры в воде контрольной линии составило 100 КОЕ/мл.

На втором этапе испытаний проводили санацию систем поения в двух птичниках с общим поголовьем 42240 голов в присутствии цыплят-бройлеров 32-дневного возраста. В одном из птичников дезинфицирующее средство использовали в виде 1%-ного раствора, в другом применяли препарат-аналог селко-pH в течение 10 дней подряд. За птицей в период опыта вели наблюдение, определяли клинический статус, наличие аллергических реакций, хозяйственные показатели (сохранность и среднесуточные приросты), исследовали обмен веществ.

Осложнений при применении препаратов во время проведения испытаний не наблюдали. В конце опыта проводили выборочные биохимические исследования крови у подопытных цыплят по следующим показателям: общий белок и его фракции, глюкоза, триглицериды, холестерин, мочевая кислота, общий билирубин, активность АСТ и АЛТ, молочная кислота.

Было установлено, что изученные биохимические показатели у опытных и контрольных цыплят не имели достоверных различий между собой.

Использование дезоксивет для санации систем поения и обеззараживания питьевой воды позитивно влияло на сохранность и продуктивность цыплят-бройлеров (таблица 1).

Таблица 1 – Сохранность, заболеваемость и среднесуточные приросты у цыплят-бройлеров

Показатели	Контрольный птичник (без санации)	1-ый опытный птичник (дезоксивет)	2-ой опытный птичник (селко-pH)
Посажено птицы, голов	21040	21200	21040
Сдано птицы, голов	19280	20180	19820
Пало цыплят-бройлеров, голов, в т.ч. с признаками поражения желудочно- кишечного тракта	1085	549	660
	738	390	456
Санитарный убой, голов	675	471	560
Сохранность, %	94,8	97,4	96,9
Среднесуточный прирост живой массы, г	65,1	65,7	65,7

Так, падеж птиц в опытных птичниках составил 549 (санация воды испытуемым препаратом) и 660 цыплят-бройлеров (санация воды препаратом селко-pH) против 1085 голов в контрольном птичнике. Среднесуточный прирост живой массы цыплят в опытных птичниках составил 65,7 г против 65,1 г у контрольных птиц.

Бактериологические исследования воды в подопытных птичниках, включающие определение общего количества микрофлоры и бактерий группы кишечной палочки (БГКП) показали, что общее микробное загрязнение воды составило 2; 3 и 90 КОЕ/мл соответственно в 1-ом опытном (испытуемый дезинфектант), 2-ом опытном (селко-pH) и контрольном птичниках (без проведения санации). В опытных птичниках наличия БГКП в исследуемой воде не обнаружено. В контрольном птичнике отмечено наличие БГКП в исследуемой воде.

Заключение. Таким образом, разработанное дезинфицирующее средство по параметрам острой внутрижелудочной токсичности относится к IV классу опасности (вещества малоопасные), не обладает хронической токсичностью при внутрижелудочном введении, не вызывает патолого-морфологических

изменений в органах дыхательной системы при хронической ингаляционной затравке. Рабочие растворы препарата не оказывают местного раздражающего действия на кожу и слизистые оболочки глаз, не обладают кожно-резорбтивным и сенсibiliзирующим действием при длительном нанесении на кожные покровы. Препарат оказывает умеренное коррозионное действие на оцинкованную жель и сталь, и слабо активен по отношению к алюминию. Дезинфицирующее средство обладает выраженным бактерицидным действием в отношении возбудителей инфекционных болезней, относящихся к 1-ой и 2-ой группам устойчивости, не оказывает влияния на обмен веществ, повышает сохранность и продуктивность цыплят-бройлеров. Следовательно, разработанный дезинфектант в виду малой токсичности, умеренного коррозионного действия и выраженных биоцидных свойств, вполне может быть рекомендован для проведения профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции животноводческих помещений, в том числе санации систем водоснабжения в присутствии животных (птиц).

Литература. 1. Аэрозоли в профилактике инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных / Ю.И. Боченин [и др.] // *Ветеринарный консультант*. - 2004. - №23-24. - С. 10-18. 2. Байдевяттов, Ю.А. Токсикологічна характеристика дезінфікуючого засобу «ВВ-1» із групи четвертинних амонійних сполук / Ю.А. Байдевяттов // *Вісник Сумського національного аграрного університету. Сер. «Ветеринарна медицина»*. - 2005. - Вип. № 1–2 (13–14). - С. 67–70. 3. Бактерицид вместо формальдегида / В.Д. Николаенко [и др.] // *Животноводство России*. - 2004. - № 3. - С. 26-27. 4. Банников, В. Вироцид в промышленном птицеводстве / В. Банников // *Птицеводство*. - 2006. - № 10. - С.44-45. 5. Высоцкий, А.Э. Биоцидная активность и токсикологическая характеристика дезинфицирующего препарата САНДИМ-Д / А.Э. Высоцкий // *Ветеринарная медицина Беларуси*. - 2005. - № 2.- С.27-30. 6. Высоцкий, А.Э. Методы испытания противомикробной активности дезинфицирующих препаратов в ветеринарии / А.Э. Высоцкий, С.А. Иванов // *Ветеринарная медицина Беларуси*. - 2005. - № 1.- С.46-48. 7. Высоцкий, А.Э. Коррозионное действие отечественных дезинфекционных препаратов / А.Э. Высоцкий // *Сб. науч. тр. / УО ВГАВМ*. - Витебск, 2008.: в 2 ч. - Т. 44, Ч. 1: *Ученые записки ВГАВМ*. - С. 32–36. 8. Использование препарата «Дезостерил» для дезинфекции кролиководческих хозяйств различного типа: Методические рекомендации / Михайловская А.С. [и др.] // *ФГБОУ ВПО Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, ГНУ ВНИИБТЖ Россельхозакадемия, Омск, 2012*. - 12 с. 9. Натопен - дезинфектант широкого спектра действия / Равилов А.З. [и др.] // *Ветеринария*. - 2010. - С. 8-12. 10. Шкарин, В.В. Дезинфекция. Дезинсекция и дератизация: руководство для студентов медицинских вузов и врачей / В.В. Шкарин. - Н. Новгород: Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2006. - 580 с.

Статья передана в печать 23.04.2015 г.

УДК 616-081.61

ВЛИЯНИЕ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА НА ПАТОМОРФОЛОГИЮ ПОЧЕК ЦЫПЛЯТ

Журов Д.О.

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

В статье приводятся данные по изучению патоморфологических изменений в почках при инфекционном бронхите кур (ИБК) и мочекишлом диатезе (подагре) на фоне микотоксикоза.

In article are cited data on studying of pathomorphological changes in kidneys at infectious bronchitis of hens (AIB) and urate diathesis (gout) against feedstuff toxicosis.

Ключевые слова: цыплята, инфекционный бронхит кур, патоморфологические изменения, подагра, почки, микотоксикоз.

Keywords: chickens, infectious bronchitis of hens, pathomorphological changes, gout, kidneys, feedstuff toxicosis.

Введение. Обеспечение продовольственной безопасности Республики Беларусь невозможно без эффективной работы аграрного сектора отечественной экономики. В решении этой важной задачи большое значение имеет развитие птицеводства – наиболее рентабельной и динамичной отрасли сельского хозяйства [1]. Значительным фактором, сдерживающим развитие птицеводства, являются инфекционные заболевания птиц, среди которых немаловажное значение имеет инфекционный бронхит кур [15].

Инфекционный бронхит кур (ИБК) – высококонтагиозная болезнь, вызываемая коронавирусом, которая проявляется поражением органов дыхания и почек у цыплят, а также репродуктивных органов со снижением яйценоскости кур [3, 4, 5].

Болезнь впервые была зарегистрирована в 1930 году в США. G. Kernohan [1930] описал ее под названием «новая болезнь дыхательных органов цыплят» [2]. Первоначально причина заболевания не была установлена. В настоящее время ИБК является одной из наиболее опасных болезней и широко распространена в странах с развитым промышленным птицеводством. На долю этой болезни приходится 22,1% всех болезней органов дыхания [2]. F. Beandette [1949] считает, что ИБК наносит птицеводству вреда больше, чем ньюкаслская болезнь [16].

Экономический ущерб при ИБК весьма значительный [8, 13, 17] и складывается из увеличения смертности птицы, снижения привесов у молодняка, плохой усвояемости кормов, увеличением выбраковки птиц [7, 9, 10]. По данным иностранных авторов, смертность цыплят до 4-недельного возраста составляет от 30 до 100%, 6-10-недельного возраста – от 40 до 100%. Продуктивность кур, переболевших ИБК в молодом возрасте, снижается на 35-60% [6, 11, 14].

В отечественной и зарубежной литературе довольно подробно описан возбудитель заболевания, клинические признаки и диагностика ИБК, тогда как вопросы патоморфологии, в том числе при ассоциативном течении ИБК, подагры и микотоксикозов, во многом остаются неясными.

Исходя из вышеизложенного, перед нами была поставлена **цель** – изучить патоморфологические изменения в почках цыплят, больных инфекционным бронхитом.

Материал и методы исследований. Проводили патологоанатомическое вскрытие павших и вынужденно убитых 35-дневных цыплят кросса «Хайсекс коричневый», доставленных из птицефабрики яичного направления. Отбирали кусочки трубчатых и паренхиматозных органов для гистоисследования. Клинически у заболевших птиц отмечали потерю веса, взъерошенное оперение, видимые слизистые оболочки были суховатые. Цыплята были малоподвижны, но от корма и воды не отказывались. При патологоанатомическом вскрытии отмечался нефрозо-нефрит, переполнение уратами почек, мочеточников и клоаки, выраженная постовариальная гипотрофия, истощение, эксикоз, клоацит, зернистая дистрофия и венозная гиперемия печени и миокарда, острая венозная гиперемия кожи и слизистых оболочек в области головы.

Для уточнения диагноза на подагру (мочекислый диатез) и микотоксикозы проводили анализ рациона (прежде всего по содержанию и происхождению белка, аминокислот, жиров), определяли общую токсичность комбикормов с *Tetrachyena rugiformis* и содержание в них микотоксинов (в ИФА). Для уточнения диагноза на ИБК проводили серологическое исследование парных проб сыворотки крови в ИФА (ретроспективная диагностика).

При проведении химико-токсикологического исследования используемого комбикорма было установлено, что он обладает выраженной токсичностью. В пробах корма наблюдалась гибель 40–35% инфузорий, а также появление экземпляров с измененной формой. При проведении зоотехнического анализа кормов установлено повышенное содержание в них белка, кальция и фосфора.

При постановке ИФА в образцах используемого корма было выявлено наличие дезоксииваленола, Т2-токсина и зеараленона в концентрациях, превышающих ПДК. При проведении серологического исследования у цыплят 35-дневного возраста отмечено значительное увеличение (в 2,5-3 раза), по сравнению с 25-дневным возрастом, титров специфических антител к возбудителю ИБК.

Для проведения гистологического исследования кусочки органов (почек) фиксировали в 96% этиловом спирте. Зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике [12]. Обезвоживание и парафинирование кусочков органов проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей «MICROM STP 120» (Германия) типа «Карусель». Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию «MICROM EC 350». Гистологические срезы кусочков органов, залитых в парафин, готовили на роторном (маятниковом) микротоме «MICROM HM 340 E». Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилин-эозином [12]. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции «MICROM HMS 70».

Гистологические исследования проводили с помощью светового микроскопа «Биомед-6». Полученные данные документированы микрофотографированием с использованием цифровой системы считывания и ввода видеоизображения «ДСМ-510», а также программного обеспечения по вводу и предобработке изображения «ScopePhoto».

Результаты исследований. При гистологическом исследовании почек цыплят 35-дневного возраста установлено, что в корковом веществе «подагрические» участки локализовались в группах рядом расположенных проксимальных канальцев, как правило, большего диаметра. Канальцы были расширены.

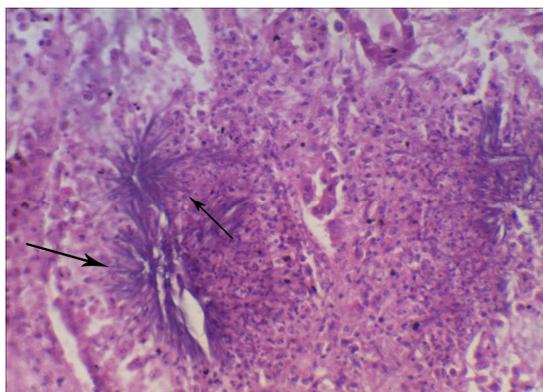
В просвете канальцев визуализировались мочекислые соли кальция, которые структурно выявлялись в трех вариантах.

В первом случае мочекислые соли просматривались в виде кристаллических, звездчатых структур (рисунок 1). Центральная их часть окрашивалась всегда базофильно. В периферических «лучиках» выявлялись оксифильные участки красного цвета. Возможно, это было связано с формированием кристаллов, содержащих соли и некротический детрит. Данное предположение объясняется тем, что эпителий канальцев чаще всего некротизировался (выявлялись фрагменты цитоплазмы и осколки ядер), реже – подвергался выраженной атрофии (клетки были всегда плоскими). «Лучики» кристаллов чередовались с полисадообразно расположенными эпителиоидными клетками. Снаружи базальной мембраны выявлялись в большом количестве гистиоциты и фибробласты, формирующие вокруг проксимальных канальцев большого калибра «псевдокапсулу».

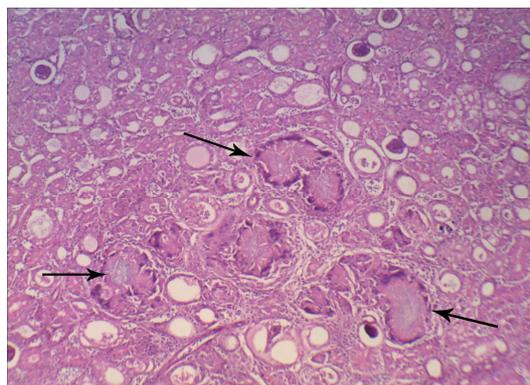
Во втором случае в просвете канальцев выявлялись базофильные цилиндры. На поперечном разрезе они имели округлую форму. Цилиндры выявлялись не гомогенно, со множеством ячеек и вакуолей. Снаружи цилиндра были окружены слоем некротического детрита в виде розово-красной каймы. По периферии каймы выявлялось множество ядер эпителиальных клеток. Базальная мембрана была разрушена. Указанные структуры были окружены единичными гистиоцитами и эпителиоидными клетками (рисунок 2).

В третьем случае эпителий мочеобразующих канальцев был лизирован, однако базальная мембрана сохранена. В просвете канальцев обнаруживалась слабо базофильная пенистая или ячеистая масса (рисунок 3).

В отдельных участках отмечался тотальный некроз канальцев. В этих участках выявлялись беспорядочно расположенные фрагменты кристаллов урата кальция, ядра разрушенных эпителиальных клеток, макрофаги и участки фибротизации.

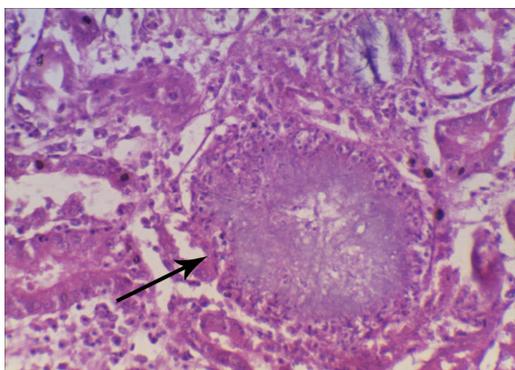


Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.:x480.
Рисунок 1 – Мочевые соли в виде кристаллических структур

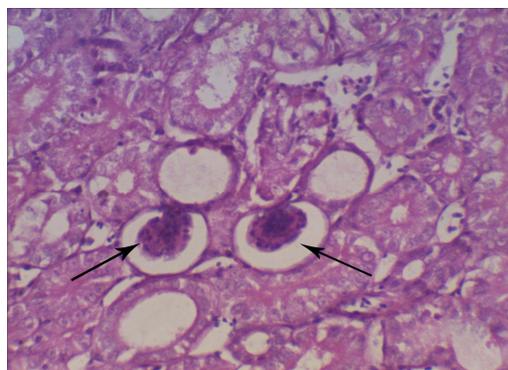


Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.:x120.
Рисунок 2 – Микровид базофильных цилиндров в почке цыпленка при подагре

Присутствующие в «подагрических» участках канальцы меньшего размера, в большинстве своем, были резко расширены, а эпителий атрофирован. Сосудистые клубочки находились в состоянии выраженной атрофии, склероза и гиалиноза (рисунок 4). В то же время капсула нефрона была резко расширена.



Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480.
Рисунок 3 – Базофильная ячеистая масса в просвете канальца почки цыпленка



Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480.
Рисунок 4 – Сосудистые клубочки в состоянии атрофии

Участки микотоксических поражений характеризовались, в первую очередь, тотальной зернистой и вакуольной дистрофией (рисунок 5) (первый и наиболее частый вариант), некрозом и лизисом (белково-некротический нефроз, второй и более редкий вариант). При этом в части мочеобразующих канальцев с некротизированным и лизированным эпителием выявлялись строго оксифильные цилиндры, окруженные базальной мембраной (рисунок 6). Иногда эпителий мочеобразующих канальцев подвергался крупнокапельной жировой дистрофии.

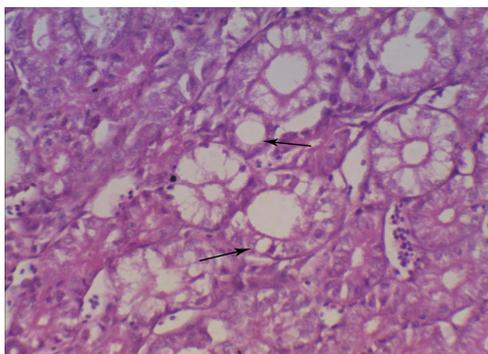


Рисунок 5 – Тотальная вакуольная дистрофия нефроцитов. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

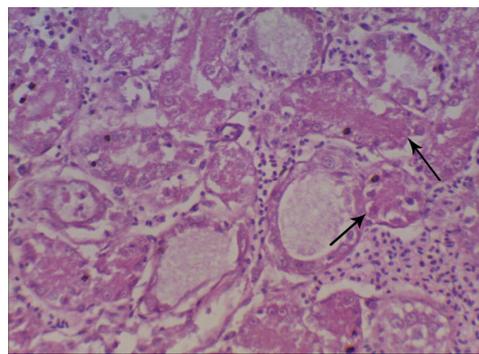


Рисунок 6 – Оксифильные цилиндры в мочеобразующих канальцах почки. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

В строме коркового вещества формировались характерные для ИБК обширные воспалительные клеточные инфильтраты и пролифераты. Они формировались самостоятельно. Среди пораженных и непораженных канальцев четкой взаимосвязи развития этих инфильтратов и пролифератов с другими патологическими процессами в почке нами не выявлено. Среди клеток преобладали лимфо- и плазмобласты, плазматические клетки, в меньшем количестве выявлялись зрелые клетки лимфоидного ряда и гистиоциты (рисунок 7). Среди элементов стромы формировались лимфоидно-макрофагальные гранулемы и узелки (рисунок 8).

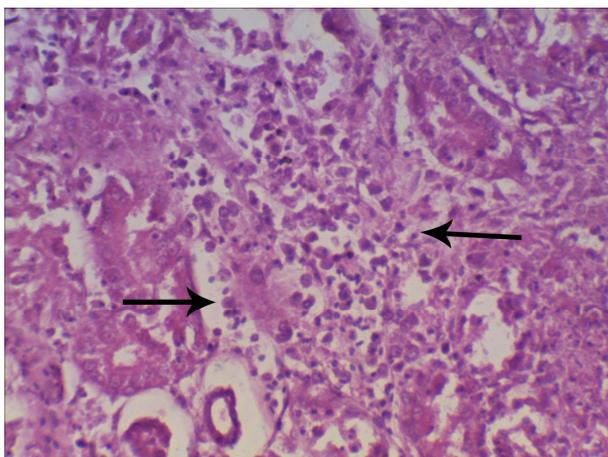


Рисунок 7 – Преобладание генераций плазматических клеток в канальце почки 35-дневного цыпленка, больного ИБК. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

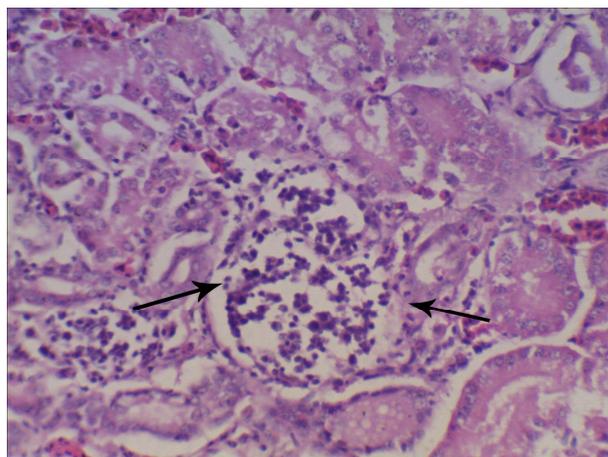


Рисунок 8 – Лимфоидно-макрофагальная гранулема в почке цыпленка, больного ИБК. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

В отдельных случаях в корковом веществе формировались обширные кровоизлияния. В пучках собирательных трубочек мозгового вещества долек почек чаще наблюдали переполнение последних цилиндрами, чаще базофильными, ячеистыми и реже – оксифильными.

Иногда встречался смешанный вариант – наличие в собирательных трубочках большого диаметра фрагментов кристаллов уратов и фрагментов цитоплазмы и ядра нефроцитов. При этом эпителий собирательных трубочек находился в состоянии выраженной атрофии. Реже отмечалась вакуольная дистрофия эпителия трубочек. Кроме того, в мозговом веществе большинства долек отмечали признаки фибротизации (склеротизации), а также лимфоидно-макрофагально-плазмноклеточные пролифераты, имеющие удлинённую форму.

В междольковых собирательных протоках и третьих ветвях мочеточников преобладали базофильные кристаллы урата кальция. Как и в корковом веществе, они имели вид звездчатых кристаллов с эпителиоидными клетками снаружи (рисунок 9). Здесь также присутствовали кристаллы моно-урата натрия в виде ветвевидных структур золотисто-желтого цвета, а также фрагменты ядер и цитоплазмы некротизированного эпителия (рисунок 10). Стенка протока была резко утолщена за счет процессов организации.

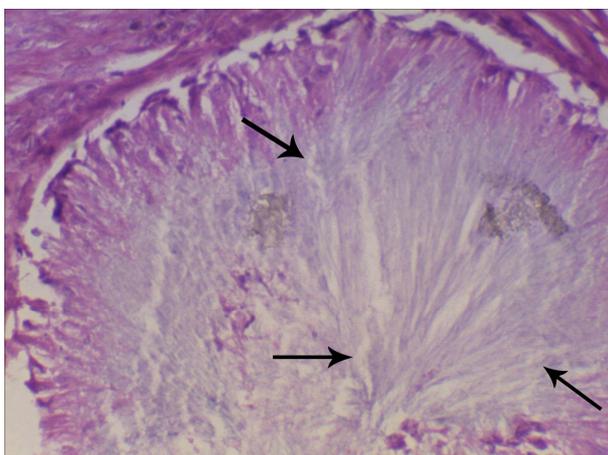


Рисунок 9 – Звездчатые кристаллы урата кальция в просвете собирательных протоков почки цыпленка, больного ИБК. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

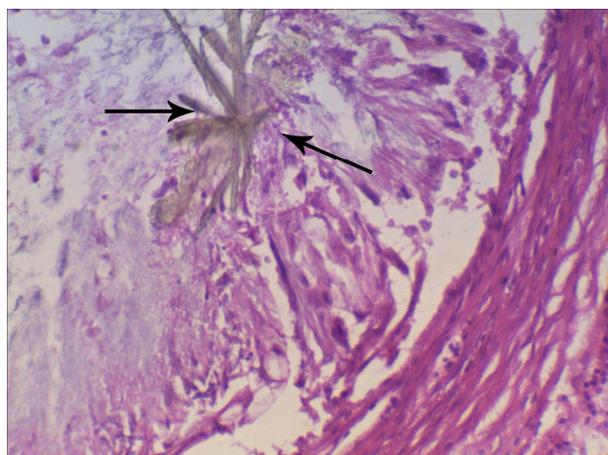


Рисунок 10 – Кристаллы моно-урата натрия в виде ветвевидной структуры. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

Заключение. Обнаруженные тяжелые и необратимые гистологические изменения у птиц характерны для ассоциативного течения инфекционного бронхита и мочекишлого диатеза (подагры) на фоне микотоксикоза. Проведенные нами исследования свидетельствуют о важной составляющей гистологического исследования как одного из основных методов диагностики инфекционного бронхита кур.

Литература. 1. Акчурин, С. В. Патоморфология и дифференциальная диагностика инфекционного бронхита кур : автореф. дис...канд. вет. наук / С.В Акчурин ; Саратов. гос. аграр. ун-т им. Н.И.Вавилова. - 2002. - 21 с. 2. Бирман, Б.Я. Инфекционный бронхит кур : монография / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов, В.С. Прудников ; Витеб. гос. акад. ветер. медицины, РНИУП «Ин-т эксперим. ветеринарии им. С.Н. Вышеселеского», Мн : Технопринт, 2003, - 130 с. 3. Борисов, А. Инфекционный бронхит кур / А. Борисов [и др.] // Птицеводство. - 2001. - №6. - С. 24-27. 4. Борисов, А. В. Инфекционный бронхит кур: особенности эпизоотологии и профилактики / А. В. Борисов, В. В. Борисов // Farm Animals. - 2014. - №1. - С.

72-74. 5. Борисов, А. В. Инфекционный бронхит кур. (Диагностика и вакцинопрофилактика) / А. В. Борисов, В. В. Борисов // Международный ветеринарный конгресс. Актуальные ветеринарные проблемы в промышленном птицеводстве : конференция, 17-18 апреля 2013 г., Москва / Российская ветеринарная ассоциация, Российский птицеводческий союз. - Москва, 2013. - С. 64-68. 6. Гришина, В. А. Морфологические и некоторые биохимические и серологические показатели крови у цыплят при экспериментальном инфекционном бронхите : автореферат дис. ... канд. биол. наук : 03.095 / В.А. Гришина ; Эстонский научно-исследовательский институт животноводства и ветеринарии. - 1971. - 12 с. 7. Журов, Д.О. Патоморфологические изменения в почках кур при ассоциативном течении подагры и мочекаменной болезни на фоне кормового токсикоза / Д.О. Журов, И.Н. Громов, А.С. Алиев, А.С. Петрунин // Животноводство и ветеринарная медицина. - 2014. - №4(15). - С. 51-56. 8. Ибрагимов, А. А. Патоморфология мочеполовых органов при инфекционном бронхите кур / А. А. Ибрагимов, М. А. Ромахова // Ветеринария. - 1983. - №9. - С. 35-38. 9. Инфекционный бронхит птиц : (аннот. указ. лит.) / Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных. - Владимир : [б. и.], 1995. - 73 с. 10. Инфекционный бронхит кур : Обзор литературы / А.Н. Куриленко, В.Л. Крупальник, Б.А. Якимчик // Ветеринария. - 1990. - №8. - С. 36-39. 11. Куриленко, А. Н. Основные направления профилактики инфекционного бронхита кур / А.Н. Куриленко, В.А. Седов // Ветеринария. - 1985. - №6. - С. 35-37. 12. Меркулов, Г.А. Курс патологогистологической техники / Г.А. Меркулов. - Ленинград : Медицина, 1969. - 432 с. 13. Осман, Мохамед Осман Соркатти. Патоморфология куриных эмбрионов при заражении вирусом инфекционного бронхита кур : автореферат дис. ... канд. ветеринарных наук : 16.00.02 / Мохамед Осман Соркатти Осман ; Московская ветеринарная академия им. К.И. Скрябина. - 1991. - 16 с. 14. Экви, Б. П. Инфекционный бронхит птиц / Б. П. Экви // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. - 2009. - №2. - С. 31-34. 15. Broadfoot, D.I., Pomeroy, B.S. and Smith, W.M. Jr.. Effects of infectious bronchitis in baby chicks. Poultry Science, 35. - 1956. - P. 757-762. 16. Cumming, R.B. Infectious bronchitis nephrosis. Proceedings of 19th World Veterinary Congress, Mexico City, 2. - 1971. - P. 487-490. 17. Newton, L.G. and Simmons, G.C. Avian nephritis and uraemia. Australian Veterinary Journal, 39. - 1963. P. 135-139.

Статья передана в печать 17.03.2015 г.

УДК 619:616.98:579.841.93:579.23:988.74

РЕЗУЛЬТАТЫ СЕРОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА КИШЕЧНОГО ИЕРСИНИОЗА СОБАК С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ ГАСТРОЭНТЕРИТА

Зон Г.А., Ивановская Л.Б., Кузнецов М.Ю., Кузнецова Е.Ю.
Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

В работе представлены результаты серологических исследований сывороток крови собак с клиническими признаками гастроэнтерита различного возраста, пола, породной принадлежности с иерсиниозными антигенами. Выявлена серопозитивность (от 1:200 до 1:800) преимущественно к иерсиниозным антигенам 06.30 и 09, в отдельных случаях одновременно с антигеном 03 (преимущественно молодые животные 1-3 лет).

The article contains the data regarding the serological research of yersiniosis antibody-positive serum samples of dogs with clinical signs of gastroenteritis, being different by age, gender and breed. The defined antibody-positiveness (from 1:200 till 1:800) mainly to the yersinia antigens 06:30 and 09, in some cases-mutually with antigen 03 (mainly young animals 1-3 yrs).

Ключевые слова: собаки, *Yersinia enterocolitica*, иерсиниозные антигены 03, 06.30, 09.

Keywords: dogs, *Yersinia enterocolitica*, yersiniosis antigens 03, 06.30, 09.

Введение. В последние годы в городах возрастает количество животных, в частности собак, которых содержат граждане в своих жилищах. Этим животных используют для охраны различных объектов, в следственных действиях органов Министерства внутренних дел, службы безопасности, пограничной службы и тому подобное.

Среди опасных болезней, возбудители которых циркулируют среди собак и могут передаваться человеку, важную роль в настоящее время играет кишечный иерсиниоз. Однако сообщений о заболевании плотоядных кишечным иерсиниозом ограниченное количество. В Украине имеются отдельные сообщения по этому поводу в работах Ивановской Л.Б., Зона М.Г. (1999, 2005), Бабкина А.Ф., Николаенко М.Н. (2005), однако это не отображает действительного положения касательно иерсиниоза у плотоядных. В связи с этим разработка соответствующих вопросов представляется актуальной и своевременной.

Штаммы иерсиний, которые выделены от свиней, коров, собак, кошек и грызунов, по биохимическим и серологическим свойствам схожи со штаммами, выделенными от больных иерсиниозом людей [3].

Тесный контакт человека с животным должен предусматривать предотвращение распространения инфекционных заболеваний, в частности, зооантропонозов, которые представляют угрозу для людей.

Ключевым моментом в сложной цепи формирования эпизоотического варианта возбудителя эмерджентной инфекции является появление генетически нового или изменение антигенных свойств уже известного патогена вследствие генетических механизмов мутаций, рекомбинаций и реассортаций. Этому способствуют изменения внешней среды, активизация торговли и транспортировки животных и кормов, использование нерациональных агрохимических и терапевтических мероприятий, ухудшение иммунного статуса поголовья животных.

Именно к таким заболеваниям относится иерсиниоз, который вызывает заболевание у многих видов животных (пресмыкающихся, рыб, рептилий, птиц, млекопитающих) и человека на разных континентах земного шара.

Всестороннее влияние человека на окружающую среду активизирует процесс приспособления микроорганизмов на фоне широкого использования антибиотиков, химиопрепаратов, пестицидов, средств дезинфекции, что приводит к селекции стойких штаммов микроорганизмов в окружающей среде, которые спустя некоторое время приобретают патогенность [Ленченко Е.М., 2000].

Резервуаром возбудителя являются многочисленные животные, однако одним из наиболее распространенных считают серую крысу и других синантропных грызунов. Установлена выраженная сезонность заболевания, которая приходится на наиболее влажные периоды года – ранняя весна и поздняя осень [3].

Исследователи иерсиниоза считают, что уровень контагиозности иерсиний является довольно низким, поэтому заболевание развивается у людей при попадании в желудок и кишечник большого количества возбудителя, который может содержаться в сыром не пастеризованном коровьем молоке, сливках, сырах, мороженом, мясе, овощах, фруктах, питьевой воде. В связи с этим иерсиниоз чаще регистрируют у детей раннего возраста, у которых менее усовершенствованы защитные функции пищеварительной системы. Собаки разного возраста могут потреблять такие же продукты [3].

В мировой ветеринарной литературе всё чаще появляются сообщения о позитивно реагирующих с иерсиниозными антигенами сыворотках крови собак, а в отдельных случаях о заболевании этих животных кишечным иерсиниозом и псевдотуберкулёзом [1,4]. Некоторые авторы придерживаются мнения, что *Yersinia enterocolitica* и *Yersinia pseudotuberculosis* являются естественными комменсалами собак и кошек (Е.А.Чандлер и соавт., 2001). Согласно другим авторам иерсинии у собак часто вызывают гастроэнтерит, энтероколит, гепатозо-гепатиты, перитонит, патологию репродуктивной системы [4, 5].

В зарубежной литературе существуют сообщения о чувствительности сывороток собак к иерсиниозным антигенам *Yersinia enterocolitica* 03, 06, 09, 5A, 5B и др., реже *Yersinia fredericsonii*, *Yersinia kristensenii*, *Yersinia intermedia* и *Yersinia pseudotuberculosis* (Fucushima H. et al., 1976; Keneko K. et al, 1977; Jae Won Byun et al, 1985 и др.). Авторы выявляли серопозитивность к иерсиниозным антигенам как у клинически больных, так и у здоровых собак. В настоящее время этиологическое значение *Yersinia enterocolitica* у плотоядных в Украине не определено.

В Украине существуют только отдельные сообщения о серопозитивности собак относительно *Yersinia enterocolitica* [1,2,3]. Бабкин А.Ф., Николаенко М.Н. регистрировали у серопозитивных к иерсиниозным антигенам собак диарею, тремор задних конечностей и аборт [1].

В связи с тем, что в патологии человека преобладают сероварианты *Yersinia enterocolitica* 03, 08, 09 и 05.27, собак рассматривают как потенциальных носителей и источник возбудителя иерсиниоза человека. Поэтому контроль эпизоотической ситуации относительно иерсиниоза собак имеет как эпизоотологическое, так и эпидемиологическое значение.

Наши предварительные скрининговые исследования сывороток крови собак с клиническими признаками патологии желудочно-кишечного тракта показали, что в 8-16% случаях выявлялись позитивные реакции с иерсиниозными антигенами [3].

Целью нашей работы было провести серологический мониторинг в отношении иерсиниозной инфекции среди собак с клиническими признаками гастроэнтерита в отдельных регионах Украины.

Материалы и методы исследований. Пробы сывороток крови были отобраны у 68 собак разных пород, возраста и пола, которые проходили обследования по поводу гастроэнтерита в клиниках ветеринарной медицины Восточной и Центральной Украины.

Для выявления иерсиниозных антител использовали в РА стандартные иерсиниозные антигены (03, 06.30, 09), изготовленные лабораторией изучения бруцеллеза ННЦ «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины» (г. Харьков).

Постановку РА осуществляли макро- и микро-методами по классической методике и, в случае получения позитивной реакции, определяли максимальный титр. Кроме того, учитывали результаты гематологических и биохимических исследований.

Гематологические исследования включали определение уровня гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гематокрита, эозинофилов, нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, базофилов; биохимические исследования включали определение АСТ, АЛТ, ГГТ, щелочной фосфатазы, общего и прямого билирубина, креатинина, мочевины, амилазы, общего белка, альбумина и глюкозы.

Работа проводилась в соответствии с НИР кафедры вирусологии, патанатомии и болезней птиц Сумского НАУ № Госрегистрации 0114U000261 «Разработать систему контроля эпизоотического благополучия в отношении инфекционных болезней животных на основе мониторинга, диагностики, прогнозирования и оценки безопасности продуктов животноводства и птицеводства в Северо-Восточной Украине».

Результаты исследований. Исследованиями установлено, что из 68 проб сывороток крови собак выявлены позитивные реакции (начиная с титра 1:200) у 54 животных (76,1%). Что касается позитивных реакций с разными иерсиниозными антигенами установлено следующее.

Самостоятельно с антигеном 03 выявили 4 позитивные реакции. В то же время одновременно позитивные реакции с антигенами 03 и 06.30 установлены в семи случаях (13,0%). Одновременно на антигены 03 и 09 позитивно в РА реагировали две пробы (3,7%), а одновременно с тремя антигенами 03, 06.30 и 09 выявлены позитивно реагирующие 5 проб (7,35%).

Самостоятельно с антигеном 06.30 установили лишь 2 позитивных реакции (3,7%), в то же время совместно с антигеном 03 – 7 позитивных реакций (13%), а одновременно с антигеном 09 – 6 случаев. Наибольшее количество позитивных реакций выявлено с иерсиниозным антигеном 09 – 23 пробы (33,8%) (таблица 1).

Таблица 1 - Количество моно- и полипозитивно реагирующих сывороток крови собак с иерсиниозными антигенами

Иерсиниозные антигены	O3	O6.30	O9	Одновременно с тремя антигенами
O3	4	7	2	
O6.30	7	2	6	
O9	2	5	23	

При установке максимальных титров к иерсиниозным антигенам, выявлено, что с антигеном O3 титры не превышали 1:200 (8 случаев). С максимальными титрами в пределах 1:200 выявили позитивные сыворотки к антигенам O6.30 в 6 случаях, а к антигену O9 – в 15 случаях. Максимальные титры 1:400 выявили соответственно у 10 сывороток, которые позитивно реагировали с антигеном O6.30 и 13 серопозитивных сывороток с антигеном O9. Только в одном случае с максимальным титром 1:800 выявили позитивную сыворотку, реагировавшую с антигеном O6.30, и 5 серопозитивных сывороток с антигеном O9 (таблица 2).

Таблица 2 - Максимальные титры у позитивно реагирующих сывороток собак на иерсиниозные антигены (количество случаев)

Титр	Сероварианты <i>Y. enterocolitica</i>		
	O3	O6.30	O9
1:200	8	6	15
1:400		13	7
1:800		1	5

Не установлено зависимости различного пола собак на склонность к инфицированию иерсиниями (38 самок и 30 самцов). Также не установили зависимости возникновения позитивных реакций у животных, которые преимущественно обитают в квартирах хозяев, во дворе или в вольерах (31 и 37).

Что касается породной склонности, представленные материалы не могут дать объективных результатов, принимая во внимание относительно малое количество пород в опыте (15), а также учитывая неравномерную распространенность разных пород собак в регионе (таблица 3).

Таблица 3 – Наличие позитивных реакций сывороток с иерсиниозными антигенами у собак различных пород

Порода	Позитивно реагирующие (количество)	%
Немецкая овчарка	9	24,3
Метисы	5	13,0
Спаниель	3	5,0
Шарпей	3	8,1
Пекинес	2	8,1
Чау-чау	2	5,4
Лабрадор	2	5,4
Кавказская овчарка	2	5,4
Алабай	2	5,4
Миттельшнауцер	1	2,7
Питбуль терьер	1	2,7
Боксер	1	2,7
Мастино	1	2,7
Черный терьер	1	2,7
Ризеншнауцер	1	2,7

В то же время просматриваются различия в инфицированности различных по возрасту групп собак. Так, наиболее часто позитивные реакции с иерсиниозными антигенами выявляли у животных до 1 года (32,4 %), двух и трёхгодичных, соответственно 16,2% и 21,6 %. У животных старше 8 лет такие реакции почти не выявлялись (таблица 4).

Таблица 4 – Результаты выявления позитивных реакций с иерсиниозными антигенами сывороток разновозрастных собак

Показатели	Возраст животного, годы														
	до1	2	3	4	5	6	7	8...	11	12	13	14	15	16	
Головы	54	16	12	9	2	2	2	3	4	1	1	1	-	-	1
%	100	29,7	22,3	16,8	3,7	3,7	3,7	5,5	7,4	1,8	1,8	1,8	-	-	1,8

Оценивая гематологический профиль позитивно реагирующих на иерсиниозные антигены животных, можно достоверно свидетельствовать о выраженной общей воспалительной реакции. В нескольких случаях регистрировали лейкоцитоз за счет превышения нормативных показателей нейтрофилов на 20-36%. В то же время выявляли почти постоянное увеличение лимфоцитов в пределах от 3 до 9%.

Отклонение констант биохимических показателей крови, на наш взгляд, больше связано с фоновыми патологиями животных (преимущественно это касалось показателей АСТ, АЛТ, ГГТ, щелочной фосфатазы) (таблица 5).

Таблица 5 – Биохимические показатели сывороток крови собак, позитивно реагирующих на иерсиниозные антигены

Показатели	Ед. измерения	Кличка собаки						
		Джинна	Гранд	Лерой	Арнольд	Рик	Рада	Джой
АЛТ	МЕ/л	20,03	149,3	95,3	86,4	105,6	87,7	121,3
АСТ	МЕ/л	20,85	1,2	61,7	23,9	0,89	94,45	76,5
ГГТ	МЕ/л	26,2	1,3	6,5	9,8	4,8	14,1	5,1
Билирубин (общий)	мкМоль/л	1,6	14,18	3,0	5,76	14,7	8,86	3,9
Билирубин (прямой)	мкМоль/л	0	12,06	0,27	2,54	12,2	5,62	1,4
Общий белок	г/л	47,4	87,15	80,06	53,05	48,17	45,4	87,5
Глюкоза	мМоль/л	2,08	8,1	2,8	4,19	2,03	2,4	5,08
Мочевина	мМоль/л	3,4	30,34	18,05	4,2	23,7	14,7	22,12
Щелочная фосфатаза	МЕ/л	254,8	151,3	109,4	741,2	179,8	88,4	140,5
Креатинин	мкМоль/л	59,1	105,0	121,0	322,0	72,6	94,4	93,5
Амилаза	МЕ/л	717,4	821,4	1627,0	779,9	656,4	599,1	1483,0
Альбумин	г/л	42,9	33,3	45,2	28,1	23,9	33,4	33,2

Данные таблицы свидетельствуют, что АЛТ у обследованных животных была повышена в 6 случаях (из 7) от 1,7 до 2,6 раз по отношению к максимальному показателю нормы. Показатели АСТ у этих животных были крайне разноплановыми. При нормативных показателях в пределах 8,9 – 48,5 МЕ/л регистрировали резкое снижение вплоть до 0,89 МЕ/л, а у остальных животных - возрастание до 94,45 МЕ/л, то есть практически в 2 раза. Показатели ГГТ также были разноплановыми. Так, у 5 животных они находились в пределах нормы, и в то же время у двух животных превышали максимальный показатель в 1,5 и 2,7 раза соответственно. Повышение билирубина в сыворотках крови установили только у двух животных из 7 (приблизительно в 1,5 раза). Содержание общего белка у 4 животных было ниже нормы, в то время как у остальных – несколько превышало максимальный уровень. У большинства обследованных собак показатели содержания мочевины превышали нормативные от 1,5 до 3 раз. Показатели щелочной фосфатазы только у двух животных были в пределах нормы, а у пяти собак они превышали норму от 1,5 до 7 раз. В то же время уровень креатинина был увеличен (в 2 раза) только у одной собаки. Увеличение нормативного показателя амилазы также было зарегистрировано у одного животного, как и показатель максимального уровня альбумина.

Заключение. Проведенными исследованиями выявлена серопозитивность (от 1:100 до 1:800) к антигенам *Yersinia enterocolitica* (03, 06.30, 09) у 76,1% собак из числа обследованных с признаками гастроэнтерита. Серопозитивными сыворотки крови собак были как к одному из 3-х иерсиниозных антигенов, так и одновременно к двум или трём (смешанные реакции). Позитивные реакции с иерсиниозными антигенами выявляли независимо от породы, пола и способа содержания собак. Преимущественно позитивно реагирующими с иерсиниозными антигенами являются животные 1-3 лет, у собак старше 4 лет реакции выявляли в виде единичных случаев. У обследованных животных установлено повышение количества нейтрофилов на 20 - 36% и от 3 до 9% лимфоцитов. При этом уровень ферментов характеризовался разноплановостью показателей с колебаниями как в сторону увеличения, так и снижения, что свидетельствует о нарушении биохимических процессов в организме обследованных животных.

На основании изложенного можно сделать выводы:

1. У 76,1% собак из числа обследованных с признаками гастроэнтерита выявлена серопозитивность (от 1:100 до 1:800) к антигенам *Yersinia enterocolitica* (03, 06.30, 09).
2. Позитивные реакции у собак выявляли преимущественно с антигеном *Yersinia enterocolitica* 09, реже с антигеном 06.30 и почти не регистрировали с антигеном 03.
3. Не установлено зависимости интенсивности позитивных реакций от породы, пола и способа содержания собак.
4. Наличие позитивных реакций с иерсиниозными антигенами (в титрах 1:200 и выше) может свидетельствовать о присутствии возбудителя иерсиниоза в организме собак, которые способны контаминировать окружающую среду, что требует контроля как эпизоотической, так и эпидемиологической обстановки.
5. У обследованных животных выявлена умеренная воспалительная реакция на фоне разноплановых показателей биохимических процессов.

Литература. 1. Бабкин А.Ф. Серологические исследования служебных собак на бруцеллез, иерсиниоз и хламидиоз в питомниках с учетом клинко-эпизоотологических данных /А.Ф. Бабкин, М.Н. Николаенко // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2005. – Т.1. – С. 72-76. 2. Ивановская Л.Б. К изучению роли *Y. enterocolitica* в патологии плотоядных / Л.Б.Ивановская, М.Г.Зон // Мат. VII межд. конф. по пробл. вет. мед. мелких дом. животных (3 – 5 марта 1999 г.). – М., 1999. – С. 262-263. 3. Івановська Л.Б. Епізоотологічний моніторинг та розробка серологічної діагностики іерсиніозу тварин: автореферат дис. ... к.вет.н.: спец. 16.00.08 «Епізоотологія та інфекційні хвороби» / Л.Б. Івановська. – Харків, 2007. – 22 с. 4. Fenwick S. Duration of carriage and transmission of *Yersinia enterocolitica* biotype 4, serotype 03 in dogs / S. Fenwick, P.Madie, C.Wilks //Epidemiology and Infection. – 1994. – V.113. – № 3. – P. 471-477. 5. Jae-Won Pyun Hepatic Yersiniosis caused by *Yersinia enterocolitica* 4:03 in an Adult Dog / Jae-Won Pyun, Soon-Seek Yoon, Suk-Kyung Lim et al //J. of Vet. Diagn. Investigation. – 2001. – V.23. – № 2. – P.376-378.

Статья передана в печать 16.04.2015 г.

ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК И АПОПТОЗ КЛЕТОК ХОЗЯИНА ДО И ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ ИНВАЗИИ ШИРОКИМ ЛЕНТЕЦОМ

Зорина В.В., Бекиш В.Я.

УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь

*Инвазия паразитами *Diphyllobothrium latum* у золотистых хомячков сопровождается генотоксическим эффектом в соматических клетках хозяина, который характеризуется ростом количества одноцепочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК клеток костного мозга до 7,1 %. Инвазия широким лентецом у человека вызывает генотоксический и цитотоксический эффекты в лимфоцитах периферической крови пациентов. Лечение пациентов с дифиллоботриозом празиквантелом, индометацином, витаминным антиоксидантным комплексом с Se и пищеварительным ферментным препаратом, содержащим липазу, амилазу, протеазы, является оптимальным, так как приводит к полной дегельминтизации, отсутствию клинических проявлений инвазии и защищает геном пациентов от генотоксического и цитотоксического воздействий секреторно-экскреторно-соматических продуктов паразитов.*

*Invasion of hamsters by *Diphyllobothrium latum* parasites is going with genotoxic effect in somatic cells of host which characterized by growth number of single cell breaks, alkali-labile sites nucleus molecule DNA of bone marrow cells till 7,1 %. Invasion of human by fish tapeworm is going with genotoxic and cytotoxic effects of lymphocytes DNA of peripheral blood. Treatment of patients with diphyllobothriosis by praziquantel in combination with indometacin and complex of antioxidant vitamin complex with selenium and digestive ferment drug lipase, amylase, protease containing use is an optimal because leads to full dehelminthization, absence of clinical appearance of invasion and protect genome of patient from genotoxic and cytotoxic influences of secretor-exretor-somatic products of parasites.*

Ключевые слова: широкий лентец, хомячки, щелочной гель-электрофорез изолированных клеток, терапия дифиллоботриоза.

Keywords: fish tapeworm, hamsters, single cell gel electrophoresis, therapy of diphyllobothriosis.

Введение. Дифиллоботриоз вызывается широким лентецом (*Diphyllobothrium latum*), который вызывает инвазию, имеющую значение для здравоохранения, поскольку паразит нарушает функцию желудочно-кишечного тракта, а также способен поглощать витамин В₁₂ и нарушать эритропоэз у пациентов. Человек заражается при употреблении в пищу слабо прожаренной рыбы или свежеприготовленной икры. Человек является для паразита окончательным хозяином и источником инвазии для щуки, окуня, ерша, судака и других хищных рыб.

Для специфической терапии дифиллоботриоза используют фенасал (йомезан, никлозамид), празиквантел [1]. При отсутствии этих препаратов рекомендуется использовать неочищенные семена тыквы. Эффективность фенасала не превышает 70 %. Для лечения дифиллоботриоза празиквантел назначают в дозе 20-25 мг/кг однократно и эффективность монотерапии им составляет 85-90 % [1].

Патогенное действие широкого лентеца на организм человека обусловлено механическим воздействием на слизистую кишечника, нейрорефлекторным влиянием, аллергическими реакциями, а также развитием эндогенного гипо- и авитаминоза В₁₂, угнетением биосинтеза фолиевой кислоты и снижением уровней витаминов антиоксидантного характера действия [3]. Все эти процессы протекают на фоне нарушенных функций со стороны иммунной системы и сопровождаются снижением общей реактивности организма [1]. Целесообразно при терапии кишечных цестодозов применение неспецифических противовоспалительных препаратов (индометацин, ибупрофен), которые снижают аллергические осложнения заболеваний и обладают антимуtagenным действием, защищая геном пациента [8, 10]. Антимуtagenное действие индометацина, ибупрофена связано, в первую очередь, с их способностью снижать в месте воспаления концентрации простагландинов, брадикинина, эндогенных пирогенов, активных форм кислорода, монооксида азота, других биологически активных веществ [5].

Цель исследования – изучить возможные генотоксические и цитотоксические эффекты в клетках хозяина при дифиллоботриозе и обосновать новый способ лечения инвазии, направленный на защиту генома хозяина, а также достижение полного выздоровления пациента.

Материал и методы исследований. Экспериментальные исследования были проведены на 40 золотистых хомяках-самцах массой 45-60 г., клиническое обоснование комбинированной терапии проводилось на базе Витебской областной инфекционной больницы. Были проведены 2 серии исследований: 1-я – на подопытных животных, 2-я – на пациентах с дифиллоботриозом и донорах крови.

В первой серии исследования проводились на подопытных животных, которые были разделены на 4 группы по 10 животных в каждой: первая (негативный контроль), вторая – чистая инвазия, третья – терапия инвазии празиквантелом; четвертая – терапия инвазии празиквантелом, индометацином и витаминным антиоксидантным комплексом с Se. Всех животных второй, третьей и четвертой групп заражали внутрижелудочно в дозе 10 плероцеркоидов на животное [2]. Для повышения вероятности приживления и способствованию более длительного паразитирования широких лентецов проводили обработку дексаметазоном, который вводили подкожно в дозе 0,4 мг на животное за 2 дня до заражения и далее 2 раза в неделю после заражения [2]. При проведении сочетанной терапии использовались следующие дозировки препаратов: празиквантел – однократно в дозе 25 мг/кг, индометацин – трёхкратно в дозе 2,14 мг/кг; витамины трёхкратно в дозировках β-каротин – 6 мг/кг, токоферола ацетата – 80 мг/кг, аскорбиновой кислоты – 200 мг/кг,

Se – 20 мкг/кг. Все препараты разводились до требуемых концентраций 2 % раствором крахмального геля и вводились животным внутривентрально.

Животные были пролечены на имагинальной стадии инвазии с 17-го по 19-й дни от заражения празиквантелом или празиквантелом с индометацином и витаминным антиоксидантным комплексом с Se. Проводили щелочной гель-электрофорез изолированных клеток (метод “ДНК-комет”) костного мозга и семенников по N.P.Singh et al. [9] в модификации B.Hellman et al. [7] и нашими изменениями [4]. Повреждения молекулы ДНК определяли при помощи автоматической программы “CASP v. 1.2.2” [6]. В качестве основного международно принятого показателя генотоксического воздействия факторов среды при проведении метода “ДНК-комет” использовали “момент хвоста” (“длина хвоста”, умноженная программой на процент ДНК в “хвосте кометы”). Для оценки цитотоксического воздействия в 100 случайно выбранных клетках определяли процент апоптотических, изображения которых характеризуют минимальные размеры ядра и большой хвост, разбросанный во все стороны. Для оценки эффективности терапии инвазии проводился подсчет количества паразитов в тонком кишечнике на 20-й день инвазии.

Во второй серии разрабатывали комбинированный способ терапии дифиллоботриоза человека празиквантелом с индометацином и витаминным антиоксидантным комплексом, содержащим витамины С, Е, β-каротин с Se. Под наблюдением находилось 20 пациентов с дифиллоботриозом (10 женщин и 10 мужчин) в возрасте от 20 до 50 лет. Для лечения дифиллоботриоза были использованы следующие препараты: празиквантел в таблетках по 600 мг; индометацин в таблетках по 25 мг; витаминный антиоксидантный комплекс с Se, в таблетке которого содержалось 100 мг витамина С, 30 мг витамина Е, 6 мг β-каротина и 30 мкг селена; пищеварительный ферментный препарат, содержащий липазу, амилазу, протеазы в драже.

Пациенты с дифиллоботриозом были разделены на три подгруппы. Первая подгруппа включала 8 человек, которые не получали лечения, вторая – 4 человека, пролеченных празиквантелом, третья подгруппа – 8 пациентов, получавших сочетанную терапию празиквантелом (однократно из расчета 25 мг/кг массы тела в три приема с интервалом в 6 часов, курс лечения – 1 день) с индометацином (25 мг 3 раза в день), витаминным антиоксидантным комплексом с Se (1 капсула в день) и пищеварительным ферментным препаратом (2 драже 3 раза в сутки). Витаминный антиоксидантный комплекс с Se и пищеварительный ферментный препарат назначали совместно с индометацином в течение 3 дней. Витамин В₁₂ назначали только одной пациентке с тяжелой формой анемии. Для оценки эффективности защиты генома соматических клеток пациентов от воздействия секреторно-эксекреторно-соматических продуктов широкого лентеца применяли метод “ДНК-комет” лимфоцитов периферической крови пациентов [4]. В качестве негативного контроля использовали данные метода “ДНК-комет” лимфоцитов 10 доноров крови. Статистическая обработка полученных цифровых данных производилась с использованием программы Excel 2010. Просчитывались средняя арифметическая и стандартное отклонение средней арифметической (M±SD). Достоверность выявляемых различий определяли по t-критерию Стьюдента. Полученные результаты считались достоверными при P<0,01-0,05.

Результаты исследований. При проведении метода “ДНК-комет” в клетках костного мозга золотистых хомяков группы интактного контроля показатель “длины хвостов” комет составил $4,10 \pm 0,89$, процент ДНК в “хвостах комет” – $1,78 \pm 0,55$, “момент хвоста” – $0,08 \pm 0,04$, а процент апоптотических клеток был $2,80 \pm 0,35$. В клетках семенников контрольных животных показатели генотоксичности (длина “хвостов комет” (в пикселях) и процент ДНК в “хвостах комет”) составили $7,92 \pm 1,56$ и $1,85 \pm 0,77$ соответственно. Показатель “момента хвоста” составил $0,16 \pm 0,09$, а процент апоптотических клеток – $3,40 \pm 0,90$.

У зараженных *D. latum* золотистых хомяков на 20-й день наблюдения в клетках костного мозга длина “хвостов комет” составила $15,34 \pm 2,18$, что достоверно превысило контрольный показатель в 3,7 раза (таблица 1). Процент ДНК в “хвостах комет” и “момент хвоста” в клетках костного мозга были выше в 3,98 и 14,9 раз соответственно контрольных уровней. Процент апоптотических клеток не отличался от данных интактного контроля. Все показатели генотоксичности и основной показатель цитотоксичности в клетках семенников не отличались от показателей животных негативного контроля (таблица 2). Количество половозрелых паразитов в тонком кишечнике составило $2,8 \pm 0,5$ экземпляров.

Таблица 1 - Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток в костном мозге золотистых хомяков до и после комбинированной терапии дифиллоботриоза

Исследуемый показатель / группа животных	Длина “хвостов комет” (в пикселях)	Процент ДНК в “хвостах комет”	“Момент хвоста”	Процент апоптотически х клеток
Негативный контроль	$4,10 \pm 0,89$	$1,78 \pm 0,55$	$0,08 \pm 0,04$	$2,80 \pm 0,35$
Чистая инвазия	$15,34 \pm 2,18^*$	$7,10 \pm 1,36^*$	$1,09 \pm 0,56^*$	$2,60 \pm 0,58$
Инвазия + празиквантел	$15,47 \pm 2,19^*$	$3,03 \pm 0,76^{*@}$	$0,51 \pm 0,11^*$	$2,60 \pm 0,46$
Инвазия + празиквантел + индометацин + комплекс витаминов с Se	$6,23 \pm 1,12^{*@}$	$1,45 \pm 0,12^{*@}$	$0,09 \pm 0,06^{*@}$	$2,80 \pm 0,13$

Примечание: * - достоверное отличие от данных негативного контроля, @ - от данных чистой инвазии при P<0,01-0,05

У инвазированных широким лентецом золотистых хомяков, получавших терапию празиквантелом на имагинальной стадии развития паразитов в клетках костного мозга, показатель длины “хвостов комет” достоверно превысил контрольный в 3,7 раза (таблица 1). Процент ДНК в “хвостах комет” возрос в 1,7 раза по отношению к контрольному, а к показателю чистой инвазии снизился в 2,3 раза. Основной показатель генотоксичности (“момент хвоста” комет) достоверно был выше в 6,4 раза по отношению к данным интактного контроля и не отличался от данных чистой инвазии. Процент апоптотических клеток в костном мозге достоверно не изменялся. В клетках семенников животных при лечении одним антигельминтиком все

показатели генотоксичности и цитотоксичности не отличались от показателей интактного контроля. Число паразитов в кишечнике уменьшилось и составило в среднем $0,6 \pm 0,35$ на животное.

Таблица 2 - Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток в семенниках золотистых хомяков до и после комбинированной терапии дифиллоботриоза

Исследуемый показатель / группа животных	Длина "хвостов комет" (в пикселях)	Процент ДНК в "хвостах комет"	"Момент хвоста"	Процент апоптотических клеток
Негативный контроль	$7,92 \pm 1,56$	$1,85 \pm 0,77$	$0,16 \pm 0,09$	$3,40 \pm 0,90$
Чистая инвазия	$7,92 \pm 0,86$	$1,84 \pm 0,69$	$0,18 \pm 0,06$	$3,40 \pm 0,34$
Инвазия + празиквантел	$8,67 \pm 1,44$	$1,89 \pm 1,57$	$0,19 \pm 0,07$	$2,40 \pm 0,74$
Инвазия + празиквантел + индометацин + комплекс витаминов с Se	$12,34 \pm 0,91^*$	$1,38 \pm 0,34$	$0,19 \pm 0,09$	$3,60 \pm 0,94$

Примечание: * - достоверное отличие от данных негативного контроля, @ - от данных чистой инвазии при $P < 0,01-0,05$

При проведении терапии дифиллоботриоза у золотистых хомяков празиквантелом в сочетании с индометацином и комплексом витаминов с Se выявило достоверные изменения по показателям генотоксичности. Так, показатель длины "хвостов комет" достоверно не отличался от контрольного и в 2,5 раза был ниже показателя чистой инвазии. Процент ДНК в "хвостах комет" был достоверно ниже значения чистой инвазии в 4,9 раза и не отличался от данных негативного контроля. Значение "момента хвоста" клеток костного мозга золотистых хомяков достоверно не отличалось от данного показателя у контрольных животных, но в то же время в 12,1 раза было ниже по сравнению с данными чистой инвазии. Процент апоптотических клеток достоверно не изменялся. В генеративных клетках хомяков-самцов при комбинированной терапии только показатель длины "хвостов комет" достоверно превысил контрольный в 1,5 раза (таблица 2). Процент ДНК в "хвостах комет", "момент хвоста" клеток семенников и процент апоптотических клеток не отличались от данных интактного контроля. После проведенной терапии на 20-й день эксперимента у хомяков данной подгруппы паразитов в кишечнике обнаружено не было.

При проведении метода "ДНК-комет" в клетках периферической крови доноров были получены следующие результаты: "длина хвостов" комет составила $3,73 \pm 1,48$, процент ДНК в "хвостах комет" – $1,59 \pm 0,55$, "момент хвоста" – $0,11 \pm 0,04$, процент апоптотических клеток – $0,36 \pm 0,50$.

Во время исследования периферической крови пациентов до лечения, методом "ДНК-комет" было установлено, что все исследуемые показатели достоверно отличались и были выше данных негативного контроля (таблица 3). Так, показатель длины "хвостов комет" достоверно возрос в 5,1 раза. Процент ДНК в "хвостах комет" превысил контрольный показатель в 5 раз. Основной показатель генотоксичности ("момент хвоста"), возрос в 15,4 раза по сравнению с данными доноров крови. Показатель цитотоксичности возрос в сравнении с данными доноров крови в 9,4 раза.

Таблица 3 - Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с дифиллоботриозом до и после комбинированного лечения

Исследуемый показатель / группа пациентов	Длина "хвостов комет" (в пикселях)	Процент ДНК в "хвостах комет"	"Момент хвоста"	Процент апоптотических клеток
Негативный контроль – доноры крови (n=10)	$3,73 \pm 1,48$	$1,59 \pm 0,55$	$0,11 \pm 0,04$	$0,36 \pm 0,50$
Дифиллоботриоз до лечения (n=8)	$19,21 \pm 3,19^*$	$8,02 \pm 0,96^*$	$1,69 \pm 0,38^*$	$3,40 \pm 0,59^*$
Дифиллоботриоз, терапия празиквантелом (n=4)	$17,78 \pm 2,97^*$	$8,56 \pm 0,81^*$	$1,43 \pm 0,17^*$	$1,00 \pm 0,42^@$
Дифиллоботриоз, терапия празиквантелом с индометацином, комплексом витаминов с Se и пищеварительным ферментным препаратом (n=8)	$3,82 \pm 0,76^@$	$1,48 \pm 1,91^@$	$0,12 \pm 0,05^@$	$0,50 \pm 0,53^@$

Примечание: * - достоверное отличие от данных доноров крови, @ - от данных до лечения при $P < 0,01-0,05$

При лечении дифиллоботриоза у людей только празиквантелом, положительный результат отмечался в трех из четырех случаев. У одного пациента на 30-й день сохранялись жалобы на слабость, урчание в животе, понос, в фекалиях обнаруживались яйца широкого лентеца. У пациентов, пролеченных только празиквантелом, при использовании метода "ДНК-комет", все исследуемые показатели генотоксичности достоверно отличались от контрольных уровней. Так, показатель длины "хвостов комет" (в пикселях) превышал контрольный уровень в 4,8 раза. Процент ДНК в "хвостах комет" был в 5,4 раза выше контрольного уровня. Основной показатель генотоксичности в лимфоцитах периферической крови не отличался от данных, полученных до лечения, но в то же время в 13 раз превышал контрольный показатель (таблица 3). Уровень апоптотических клеток был ниже в 3,4 раза, чем до лечения, и не отличался от данных контрольной группы.

У пациентов с дифиллоботриозом, получавших празиквантел, индометацин, комплекс витаминов-антиоксидантов с Se и пищеварительным ферментным препаратом, на 30-й день жалоб не было, в фекалиях яйца *D. latum* не обнаруживались. При оценке данных, полученных при использовании метода “ДНК-комет”, было установлено, что длина “хвостов комет” не отличалась от показателя доноров крови и в 4,6 раза снизилась по сравнению с данными до лечения (таблица 3). Процент ДНК в “хвостах комет” также достоверно не изменялся в сравнении с контрольными значениями и в 5,4 раза был ниже, чем этот показатель до лечения. Отмечалось также снижение “момента хвоста” лимфоцитов периферической крови в 8,9 раза по сравнению с данными до лечения, и этот показатель не превышал контрольный уровень. Уровень апоптотических клеток не отличался от показателей доноров крови и достоверно в 6,8 раз был меньше, чем до лечения.

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что инвазия широкими лентецами золотистых хомяков сопровождается генотоксическим эффектом в соматических клетках хозяина, который характеризуется ростом количества одноцепочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК клеток костного мозга до 7,1 %.

Исследование влияния терапии экспериментального дифиллоботриоза показало, что однократное применение празиквантела на имагинальной стадии развития паразитов не может полностью защитить геном соматических клеток хозяина от генотоксического воздействия секреторно-эксcretорно-соматических продуктов широкого лентеца. Это подтверждалось сохранением высоких уровней “момента хвоста” клеток костного мозга, а также сохранением половозрелых паразитов в тонком кишечнике зараженных животных.

Назначение празиквантела с индометацином в комбинации с комплексом витаминов с Se на имагинальной стадии развития паразитов оказалось эффективным способом защиты генома хозяина по сравнению с лечением только антигельминтиком. Назначение празиквантела с индометацином в комбинации с комплексом витаминов с Se приводит к интенсивному снижению “момента хвоста” клеток костного мозга до показателей интактного контроля. Кроме того, у зараженных животных, получавших эту комбинацию препаратов, было отмечено отсутствие паразитов в кишечнике по сравнению с инвазированными нелечеными животными.

Инвазия широким лентецом у человека сопровождается генотоксическим и цитотоксическим эффектами в лимфоцитах периферической крови пациентов, которые характеризуются ростом количества одноцепочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК до 8 % и апоптотических клеток до 3,4 %. Лечение пациентов с дифиллоботриозом празиквантелом, индометацином и витаминным антиоксидантным комплексом с Se и пищеварительным ферментным препаратом, содержащим липазу, амилазу, протеазу, является оптимальным, так как приводит к полной дегельминтизации, отсутствию клинических проявлений инвазии и защищает геном больного от генотоксического и цитотоксического воздействий секреторно-эксcretорно-соматических продуктов *D. latum*. На основании проведенных экспериментальных и клинических исследований, проведенных в рамках темы задания ГНТП «Инфекционные заболевания и микробиологические биотехнологии» 03.05 «Изучить эпидемиологическую ситуацию по цестодозам в отдельных регионах Беларуси, предложить способы их профилактики и лечения», нами разработаны и утверждены Министерством здравоохранения инструкция по применению «Комбинированный способ лечения дифиллоботриоза» и протокол обследования и лечения пациентов с дифиллоботриозом (Per. № 096-1008).

Литература. 1. Авдюхина, Т.И. Дифиллоботриозы / Т.И. Авдюхина // Клиническая паразитология / А.Я. Лысенко [и др.]; под ред. А.Я. Лысенко. – Женева, 2002. – Ч. 2. – С. 439–446. 2. Астафьев Б.А. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине / Б.А. Астафьев, Л.С. Яроцкий М.Н. Лебедева. – М.: Наука, 1989. – 279 с. 3. Влияние жизнедеятельности гельминтов на метаболизм витаминов в организме их хозяев / О.-Я.Л. Бекиш [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2007. – Т. 6, № 3. – С. 86–92. 4. Дурнев А.Д. Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений / Дурнев А.Д. и др. / Методические рекомендации. Утв. РАМН и РАСН. – М., 2006. – 27 с. 5. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в Беларуси: Справочник. – М.: АстраФармСервис. – 2007. – С. 269–270; 838–839. 6. A cross-platform public domain PC image-analysis program for the comet assay / K. Kořca [et al] // *Mutat. Res. Genetic Toxicol. and Envir. Mutagenesis*. – 2003. – Vol. 534. – P. 15–20. 7. Hellman, B. Alkaline single cell gel electrophoresis of DNA fragments in biomonitoring for genotoxicity: an introductory study on healthy human volunteers / B. Hellman, H. Vaghef, L. Friis, C. Edling // *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. – 1997. – Vol. 69. – P. 185–192. 8. Lee Se-Hoon, Hannu N. Effects of indomethacin and arachidonic acid on sister chromatid exchange induction by styrene and styrene-7,8-oxide // *Mutat. Res. Lett.* – 1995. – Vol. 348, № 4. – P. 175–181. 9. Singh, N. A Simple Technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells / N. Singh, M. McCoy, R. Tice, E. Schneider // *Exp. Cell Research*. – 1988. – Vol. 175. – P. 184–191. 10. Suzuki Y. [et al] Effect of indometacin on the micronucleus test of mice // *Mutat. Res. Environ. Mutagenesis and Related. Subj.* – 1988. – Vol. 203, № 5. – P. 388–392.

Статья передана в печать 24.03.2015 г.

УДК 636.5-053.087.8

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИКА «КЛОСТАТ™ СУХОЙ» В БРОЙЛЕРНОМ ПТИЦЕВОДСТВЕ

Капитонова Е.А., Мехова О.С.

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

Применение пробиотика «КлоСТАТ™ сухой» в рационах цыплят-бройлеров способствует повышению среднесуточных приростов на 1,6%, сохранности поголовья на 2,6 п.п. и снижению затрат корма на единицу продукции на 6,2%. Пробиотик «КлоСТАТ™ сухой» оказывает стимулирующее действие на формирование лакто- и бифидофлоры в желудочно-кишечном тракте, угнетает условно-патогенную

микрофлору и снижает содержание бактерий кишечного паратифозной группы, дрожжей и плесневых грибов у цыплят-бройлеров. Окупаемость 1 рубля затрат на дачу пробиотика составила 9,9 рубля.

Application of a probiotic «KloSTAT™ dry» in diets of broilers promotes increase of average daily prirost for 1,6%, safety of a livestock for 2,6 p.p. and to decrease in costs of a forage of a unit of production by 6,2%. The probiotic «KloSTAT™ dry» the stimulating impact on formation lakto-and bifidoflor in gastroкишечном a path, oppresses opportunistic microflora and reduces the maintenance of bacteria of enteroparatyphus group, yeast and mold mushrooms at broilers. Payback of 1 ruble of costs of giving a probiotic made 9,9 rubles.

Ключевые слова: пробиотик, цыплята-бройлеры, микробиоценоз, продуктивность.

Keywords: probiotic, broilers, microbiocenosis, efficiency.

Введение. Птицеводство является важнейшей отраслью сельского хозяйства, производящей диетические и высококалорийные продукты. В настоящее время птицеводство Республики Беларусь превратилось в развитую специализированную отрасль сельского хозяйства. Откорм цыплят-бройлеров – самый быстрый процесс производства мяса, а соответственно, и возврата денежных средств. Повышение экономической эффективности птицеводства, как одной из наиболее скороспелых и продуктивных отраслей животноводства, в значительной степени определяется стойким благополучием птицеводческих хозяйств по инфекционным и инвазионным болезням [1, 2, 3].

В последнее время мировое производство мяса птицы возрастает приблизительно на 6% ежегодно. На сегодняшний день доля мяса птицы в структуре мясного производства в мире составляет 25%. В Республике Беларусь эта доля несколько ниже и в структуре производства составляет всего 15 %, а в структуре потребления – 15,9%. Однако эта ситуация стремительно выправляется. Следует отметить, что мясо птицы занимает весьма значительное место в структуре питания белорусов. Так, по данным специалистов Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, мясо птицы ежедневно употребляют в пищу 26,6 % жителей нашей страны, а несколько раз в неделю – 46 %, не употребляют этот продукт всего 1,7 %. В целом, употребление мяса имеет ярко выраженную тенденцию к росту [4].

Пробиотики представляют собой группу функциональных добавок на основе живых культур микроорганизмов, способных избирательно стимулировать симбионтную микрофлору кишечника. Пробиотические эффекты также могут быть реализованы представителями спорообразующих микроорганизмов – *Bacillus*, которые своим присутствием способны предотвращать кишечные расстройства порой даже в большей степени, чем традиционные пробиотики на основе бифидо- и лактобактерий. Протеолитические, пектинолитические, липолитические и целлюлозолитические способности бактерий рода *Bacillus*, затрагивая процессы пищеварения, могут приводить к нормализации внутренних процессов и функций макроорганизма – разрушать тромбы и гепарин, токсические продукты и аллергены, уменьшать образование холестериновых мицелл [5, 6, 7, 8]. Бактерии рода *Bacillus* являются одной из наиболее широко распространенных групп микроорганизмов. Благодаря способности к синтезу разнообразных веществ они способны регулировать и стимулировать процессы пищеварения, оказывать противоаллергенное и антиоксидантное действие. Одним из основных свойств бактерий рода *Bacillus*, получивших применение в практической медицине и ветеринарии, является их высокая активность в отношении широкого спектра патогенных и условно-патогенных микроорганизмов [9, 10, 11].

Материал и методы исследований. В условиях клиники кафедры паразитологии УО ВГАВМ нами проводился научно-лабораторный опыт, целью которого являлось установление эффективности применения пробиотика «КлоСТАТ™ сухой» на микробиоценоз желудочно-кишечного тракта цыплят-бройлеров. В качестве основного рациона для подопытной птицы использовали полнорационные комбикорма, которые по питательности соответствовали техническим условиям Республики Беларусь. К основному рациону цыплят-бройлеров 2-й опытной группы добавляли пробиотик «КлоСТАТ™ сухой», производимый компанией «Kemin Europa N.V.» (Бельгия), в рекомендуемой дозе 0,5 г/кг сухого вещества комбикорма, согласно схеме опыта (таблица 1).

Таблица 1 - Схема опыта

№ группы	Наименование выполняемых работ
1 (контроль)	Основной рацион (ОР)
2	ОР + пробиотик «КлоСТАТ™ сухой» (ежедневно в дозе 0,5 г/кг)

При наблюдении за цыплятами контрольной и опытной групп учитывали их клиническое состояние, причины выбытия, прирост живой массы (еженедельно посредством взвешивания), а также взятие содержимого кишечника для проведения микроскопических исследований для дифференцировки микрофлоры.

Пробиотик «КлоСТАТ™ сухой» является корректором дисбиотических состояний животных с помощью бактерий рода *Bacillus*. Благодаря синтезу разнообразных ферментов и других веществ они регулируют и стимулируют пищеварение, оказывают противоаллергенное и антиоксидантное действие. Биотерапевтический эффект бактерий *Bacillus subtilis* связан с прямым антагонистическим действием на патогенные и условно-патогенные микробы, приводящим к уменьшению их количества, с влиянием на их метаболизм и появлением специфических антител, а также со стимуляцией иммунитета. Пробиотик «КлоСТАТ™ сухой» совместим с кокцидиостатиками органическими кислотами, а также устойчив к воздействию температур при обычном процессе грануляции. Пробиотик «КлоСТАТ™ сухой» обладает антагонистической активностью в отношении широкого спектра патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, включая эшерихии, сальмонеллы, протеев, стафилококков, клебсиелл и других видов [12].

В ходе наших исследований мы определяли в тонком и толстом отделах кишечника количество бифидобактерий, лактобактерий, аэробных бацилл, кишечных палочек, сальмонелл, микроскопических грибов

[13, 14]. Для определения в фекалиях птиц кишечных палочек, бацилл, лакто- и бифидобактерий использовали единую методику разведения фекалий на физрастворе с последующим высевом на специальные питательные среды. Для определения бактерий были использованы следующие среды: для лакто- и бифидобактерий - тиогликолевая среда; для определения аэробных бацилл – подложки для определения мезофильных и факультативно анаэробных микроорганизмов, для определения кишечных палочек – подложки для определения бактерий вида *E.coli*, для сальмонелл – подложки для определения энтеробактерий и бактерий рода *Salmonella*, для микроскопических грибов – подложки для определения дрожжей и плесневых грибов.

Исследование проводили в несколько этапов: 1) Использование метода последовательных (серийных) разведений для приготовления взвесей для посевов проб фекалий птиц. 2) Внесение 1 см³ каждого разведения исследуемого образца на подложки. Помещение подложек в термостат и инкубирование их (с посевами мезофильных аэробных микроорганизмов в течение 24±3 ч при температуре 36±1°C, и с посевами дрожжевых и плесневых грибов в течение 48±3 ч, при температуре 24±1 °C). Подсчет колоний. Полученные результаты округляли по ГОСТ 26670 и выражали в КОЕ/г (см³). 3) Определение количества лакто- и бифидобактерий на тиогликолевой полужидкой среде с содержанием 0,2 % агара.

Следующим большим этапом наших исследований явилось испытание пробиотика «КлоСТАТ™ сухой» в производственных условиях различных птицефабрик, согласно вышеуказанной схеме опыта (см. таблицу 1).

Результаты исследований. Полученные результаты выращивания цыплят-бройлеров в лабораторных условиях, при введении пробиотика «КлоСТАТ™ сухой», приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Основные продуктивные показатели цыплят-бройлеров при введении пробиотика «КлоСТАТ™ сухой»

Показатели	Группа	
	1	2
21 день		
Средняя живая масса по группе, г	761,9±18,2	815,0±21,5 P>0,05
в % к контролю	100	107,0
Среднесуточный прирост, г	34,4	36,9
в % к контролю	100	107,3
Падеж, гол	0	0
42 дня		
Средняя живая масса по группе, г	2102,2±73,8	2443,2±73,0 P <0,001
в % к контролю	100	116,2
Среднесуточный прирост, г	49,1	57,2
в % к контролю	100	116,5
Падеж, гол	0	0
Затраты корма на 1 кг прироста за весь период выращивания, кг	2,03	1,97 P <0,05
в % к контролю	100	97,0

Как видно из показателей, представленных в таблице 2, в середине периода выращивания (21 день) средняя живая масса и среднесуточные приросты цыплят-бройлеров 2-й опытной группы на 7,0-7,3% соответственно (+53,1 г) превосходили показатели сверстников из 1-й контрольной группы. К концу периода выращивания (42 дня) средняя живая масса цыплят-бройлеров 2-й группы была выше на 16,2% (+341 г), а среднесуточный прирост – на 16,5% (+8,1 г).

При проведении опытной работы в помещении для выращивания цыплят-бройлеров были созданы все необходимые параметры микроклимата, а также обеспечено своевременное полноценное кормление и поение. Сохранность птиц в подопытных группах на протяжении всего периода выращивания удалось сохранить на уровне 100%. В условиях клиники кафедры паразитологии УО ВГАВМ птицы потребляли корм вволю. Затраты корма на 1 кг прироста живой массы во 2-й группе были на 3,0% меньше, чем в 1-й группе, что положительно отразилось на конверсии корма. Улучшение усвояемости компонентов комбикорма позволило экономить его до 60 грамм с каждого килограмма. Цыплята-бройлеры 2-й опытной группы, в рацион которых вводили пробиотик «КлоСТАТ™ сухой», на всем протяжении опыта отличались высокой энергией роста. По сравнению с цыплятами 1-й контрольной группы, при наблюдении за цыплятами 2-й опытной группы нами было установлено, что они спокойно поедали корм, при этом были активны, адекватно воспринимали периоды кормления, поения и уборки клетки, т.е. были наиболее стрессоустойчивы.

В таблице 3 представлены результаты расчетов содержания бактерий, дрожжей и плесневых грибов в кишечнике цыплят-бройлеров при введении в рацион пробиотика «КлоСТАТ™ сухой». Из показателей, представленных в таблице 3, видно, что применение пробиотика способствовало тому, что количество лакто- и бифидобактерий в опытной группе к 40 дню опыта составило $8,24 \times 10^{10} \pm 2,21 \times 10^{10}$, в то время как в контрольной - $5,6 \times 10^8 \pm 0,61 \times 10^8$. Лакто- и бифидобактерии – это показатель здоровья макроорганизма, его колонизационной резистентности. Бифидобактерии синтезируют аминокислоты и белки, витамины В₁, В₂, К, тиамин, рибофлавин, никотиновую, пантотеновую, фолиевую кислоту, пиридоксин, цианкобаламин, которые всасываются в кишечнике и используются макроорганизмом в метаболических процессах, являются естественными биосорбентами и способствуют образованию Т- и В-лимфоцитов и макрофагов. Участвуют в образовании органических кислот, изменении pH среды кишечника.

Таблица 3 - Микробиоценоз кишечника цыплят-бройлеров при применении пробиотика «КлоСТАТ™ сухой»

Показатели	Группы	
	контрольная	опытная
15 дней		
Тиогликолевая среда для определения бифидо- и лактобактерий	$6,93 \times 10^8 \pm 1,26 \times 10^8$	$4,72 \times 10^{10} \pm 3,14 \times 10^{10}$ $p > 0,05$
Подложки для определения колиформных бактерий и бактерий вида <i>E.coli</i> (<i>E.coli</i> /Coliform)	$6,79 \times 10^9 + 0,83 \times 10^9$	$5,82 \times 10^8 \pm 1,21 \times 10^8$ $p > 0,05$
Подложки для определения бактерий рода <i>Salmonella</i>	$2,91 \times 10^7 \pm 0,33 \times 10^7$	$0,73 \times 10^8 \pm 0,07 \times 10^8$ $p \leq 0,01$
Подложки для определения дрожжей и плесневых грибов	$0,67 \times 10^5 \pm 0,18 \times 10^5$ $p < 0,05$	$2,33 \times 10^5 \pm 0,78 \times 10^5$ $p > 0,05$
40 дней		
Тиогликолевая среда для определения бифидо- и лактобактерий	$5,6 \times 10^8 \pm 0,61 \times 10^8$	$8,24 \times 10^{10} \pm 2,21 \times 10^{10}$ $p > 0,05$
Подложки для определения колиформных бактерий и бактерий вида <i>E.coli</i> (<i>E.coli</i> /Coliform)	$7,23 \times 10^9 \pm 2,13 \times 10^9$	$3,4 \times 10^8 \pm 0,06 \times 10^8$ $p > 0,05$
Подложки для определения бактерий рода <i>Salmonella</i>	$1,44 \times 10^7 \pm 0,22 \times 10^7$	$0,2 \times 10^8 \pm 0,12 \times 10^8$ $p < 0,05$
Подложки для определения дрожжей и плесневых грибов	$4,33 \times 10^7 \pm 0,52 \times 10^7$	$1,0 \times 10^5 \pm 0,09 \times 10^5$ $p < 0,05$

У цыплят-бройлеров контрольной группы с 15 до 40 день отмечалось увеличение бактерий *E. coli* с $6,79 \times 10^9 + 0,83 \times 10^9$ до $7,23 \times 10^9 \pm 2,13 \times 10^9$, а в опытной группе, наоборот, уменьшение с $5,82 \times 10^8 \pm 1,21 \times 10^8$ до $3,4 \times 10^8 \pm 0,06 \times 10^8$. Количество сальмонелл в кишечнике цыплят-бройлеров на 15 день опыта в контрольной группе было $2,91 \times 10^7 \pm 0,33 \times 10^7$, к 40 дню оно составило $1,44 \times 10^7 \pm 0,22 \times 10^7$. В опытной группе количество сальмонелл снизилось с $0,73 \times 10^8 \pm 0,07 \times 10^8$ (на 15 день опыта) до $0,2 \times 10^8 \pm 0,12 \times 10^8$ (на 40 день). Условно-патогенные микроорганизмы, к которым относятся эшерихии и сальмонеллы, в случае снижения резистентности животного могут отягощать течение других болезней или сами выступать в качестве этиологических факторов заболеваний и приводить к транслокации кишечных микроорганизмов в органы и ткани животных и птицы. Очевидно, что введение в рацион кормовой пробиотической добавки «КлоСТАТ™ сухой» существенно снижает содержание бактерий кишечного паратифозной группы.

Из данных таблицы 3 видно, что концентрация микромицет в фекалиях цыплят опытной группы значительно ниже, чем в контрольной. В опытной группе количество дрожжей и плесневых грибов снизилось с $2,33 \times 10^5 \pm 0,78 \times 10^5$ (в 15 дней) до $1,0 \times 10^5 \pm 0,09 \times 10^5$ (в 30 дней). Это позволяет нам предполагать, что заселение кишечника осуществляется конкурентоспособными штаммами *B.subtilis*, которые осуществляют неспецифический контроль над численностью условно-патогенной микрофлоры путем вытеснения ее из состава кишечного микробиоценоза.

В условиях птицефабрики СООО «Витконпродукт» Шумилинского района Витебской области проведено опытно-промышленное испытание влияния кормовой пробиотической добавки «КлоСТАТ™ сухой» при введении в рационы цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» (см. таблицу 1). Результаты производственных испытаний представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Экономическая эффективность применения пробиотика «КлоСТАТ™ сухой» в условиях СООО «Витконпродукт» Шумилинского района Витебской области

Показатели	Ед. изм.	Контрольный птичник	Опытный птичник («КлоСТАТ™ сухой»)
Показатели для расчета экономической эффективности			
Сохранность	%	95,2	97,8 (+2,6)
Средняя живая масса 1 головы в конце опыта	г	2078,7	2145,4 (+66,7)
Живая масса по группе в конце опыта	кг	989,5	1049,1 (+59,6)
Общий прирост живой массы	кг	965,7	1023,9 (+58,2)
Среднесуточный прирост	г	51,0	52,6 (+1,6)
Расход кормов на 1кг прироста	кг	2,11	1,98
По отношению к контролю	%	100	93,8 (-6,2)
Расчет экономического эффекта			
Расходовано комбикормов	кг	2087,8	2077,2
Введено пробиотика на 1 т комбикорма	кг	-	0,88
Стоимость комбикормов	руб/кг	1 155	1 155
Стоимость введенных добавок	руб.	-	36 212
Стоимость скормленных кормов	тыс.руб.	2411,5	2399,2 (-12,3)
Стоимость кормов и добавок	тыс.руб.	2411,5	2435,4
Себестоимость прироста живой массы	тыс.руб.	3445,0	3479,1 (+34,1)
Реализационная цена 1кг	руб.	6596	6596
Стоимость реализованного мяса	тыс.руб.	6526,7	6919,9 (+393,2)
Прибыль	тыс.руб.	3081,7	3440,8 (+359,1)
Окупаемость 1 рубля затрат на дачу препарата	руб.	-	9,91

Из показателей таблицы 4 видно, что введение в рацион цыплят-бройлеров кормовой пробиотика «КлоСТАТ™ сухой» способствовало повышению среднесуточных приростов на 1,6%, сохранности поголовья на - 2,6 п.п. и снижению затрат корма на единицу продукции - на 6,2%.

Применение пробиотика «КлоСТАТ сухой» в промышленном птицеводстве за счет затрат на дачу препарата способствовало незначительному повышению себестоимости прироста живой массы на 1%, которое привело к увеличению прироста живой массы цыплят-бройлеров на 6%, при этом прибыль от реализации полученного мяса возросла на 11,6%.

При затратах на приобретение пробиотика «КлоСТАТ сухой» и скармливание его 500 головам цыплятам-бройлерам и получении дополнительной прибыли в размере 359,1 тыс.руб, окупаемость 1 рубля затрат на дачу препарата составила 9,9 рубля. С учетом плотности посадки птиц в птичнике получение экономического эффекта может пропорционально возрастать.

Заключение. Установлено, что пробиотик «КлоСТАТ™ сухой» оказывает стимулирующее действие на формирование лакто- и бифидофлоры в желудочно-кишечном тракте, угнетает условно-патогенную микрофлору и снижает содержание бактерий кишечного-паратифозной группы, дрожжей и плесневых грибов у цыплят-бройлеров.

Применение пробиотика «КлоСТАТ™ сухой» в рационах цыплят-бройлеров способствует повышению среднесуточных приростов на 1,6%, сохранности поголовья на 2,6 п.п. и снижению затрат корма на единицу продукции на 6,2%. Окупаемость 1 рубля затрат на дачу пробиотика составила 9,9 рубля.

Литература. 1. Гигиена животных : учебник / В.А. Медведский [и др.]; под общ. ред. В.А. Медведского. – Минск: Техноперспектива, 2009. – 617 с. 2. Съедин, Г.П. Ресурсосберегающие технологии в промышленном бройлерном птицеводстве // Журнал «Птицеводство». – № 09. – 2014. – С. 2-3. 3. Красочко, П.А. Роль микрофлоры в возникновении заболеваний у животных и птиц / П.А. Красочко, В.М. Голушко, Е.А. Капитонова // Проблемы интенсификации производства продуктов животноводства : тезисы докладов международной научно-практической конференции, (г. Жодино, 9–10 октября 2008). – Жодино, 2008. – С. 292–294. 4. Птицеводство. Официальный сайт Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь. [Электронный ресурс] <http://mshp.minsk.by/sh/animal/fowl/f654dde89eaf27f6.html>. Дата доступа: 12.02.2015. 5. Попков, Н.А. Корма и биологически активные вещества / Н.А. Попков [и др.]. – Минск : Беларуская навука, 2005. – 882 с. 6. Стегний, Б.Т. Перспективы использования пробиотиков в животноводстве / Б.Т. Стегний, С.А. Гужвинская // Ветеринария. – 2005. – № 11. – С. 10–11. 7. Капитонова, Е.А. Профилактика заболеваний птиц путем введения в рацион цыплят-бройлеров биологически активных веществ // Труды Всероссийского Института Экспериментальной Ветеринарии (посвященные 100-летию со дня рождения А.Х. Саркисова). – Москва. - 2009. - Том 75. – С. 329-331. 8. Fuller, R. Basis and efficacy of probiotics / R. Fuller // Worlds Poultry Science Journal. – 1987. – Vol. 44, № 1. – P. 69–70. 9. Данилевская, Н.В. Фармакологические аспекты применения пробиотиков / Н.В. Данилевская // Ветеринария. – 2005. – № 11. – С. 6–10. 10. Капитонова, Е.А. Профилактика дисбактериозов // Экология и инновации : тезисы докладов IV международной научно-практической конференции, (г. Витебск, 22-23 мая 2008). – Витебск, 2008. – С. 100-101. 11. Guillot, J.F. The pros and cons of probiotics – take probiotics work for poultry / J.F. Guillot // World poultry. – 2000. – № 7. – P. 18–21. 12. Инструкция по применению пробиотической добавки «КлоСТАТ™ сухой» в птицеводстве / Е.А. Капитонова, В.А. Медведский // Утверждена секцией животноводства и ветеринарии научно-технического Совета МСХиП РБ 25.08.2011 г. (протокол № 5). 13. Красочко, П.А. Рекомендации по изучению микрофлоры желудочно-кишечного тракта животных / П.А. Красочко, А.А. Гласкович, Е.А. Капитонова, Ю.В. Ломако // Рекомендации утв. отд. ветеринарии Комитета по СХиП Витебского облисполкома 15.10.08. № 175. - Витебск : ВГАВМ, 2008. – 20 с. 14. Инструкция по применению готовых подложек РИДА КАУНТ «Оптимизированные методы количественного выявления санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов» / Утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь от 19.03.2010 г. № 074-0210.

Статья передана в печать 14.04.2015 г.

УДК 619:616.995.1:636.597

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ГЕЛЬМИНТОФАУНЫ ДИКИХ (*Anas platyrhynchos* L.) И ДОМАШНИХ (*Anas platyrhynchos* f. dom.) УТОК В СЕВЕРНОЙ ЗОНЕ БЕЛАРУСИ

Кукар Д.В.

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

В северной зоне Беларуси общими для диких и домашних уток оказались 22 вида гельминтов (K_s составил 69,84%). Наибольшая роль в распространении трематод, цестод, нематод домашних уток из числа диких птиц принадлежит крякве. Среди других видов диких птиц первое место по распространению трематодозной и нематодозной инвазии диких и домашних уток занимают чирки – 38,46% (из 13 видов у них зарегистрировано 5) и 27,27% (из 11 видов у них зарегистрировано 3) соответственно, цестодозной инвазии – нырки – 31,25% (из 16 видов у них зарегистрировано 5). В поддержании очагов акантоцефалезной инвазии среди домашних уток принимает участие кряква, другие виды диких птиц на территории северной зоны Беларуси участия не принимают.

There are 22 general species of helminthes for wild and domestic ducks in north region of Belarus (K_s – 69,84%). Among wild birds wild duck has the main role in spreading of trematoda, cestoda, nematode of domestic ducks. Among other species of wild birds teal has the main role in spreading of trematodes and nematode of wild and domestic ducks – 38,46% (5 from 13 species have been registered in them) and 27,27% (3 from 11 species have been registered in them) accordingly, pochard has the main role in spreading of cestodes of wild and domestic ducks – 31,25% (5 from 16 species have been registered in them). Wild duck becomes a party to forming seat of acantoccephala

invasion among domestic ducks, other species of wild birds have not role in forming seat of acantocephala invasion among domestic ducks in north region of Belarus.

Ключевые слова: дикая утка, домашняя утка, чирок, нырок, виды гельминтов, встречаемость.

Keywords: wild duck, domestic duck, teal, pochard, species of helminthes, occurrence.

Введение. Одними из задач народного хозяйства нашей страны являются развитие уководства, увеличение численности популяций охотничье-промысловых животных [2, 4, 8]. Выращивание уток на неспециализированных фермах и в приусадебных хозяйствах не требует дорогостоящих помещений, а уход за птицами несложен и не требует больших трудовых затрат [9]. Дикие утки относятся к категории охотничье-промысловых птиц, и в перспективе интенсивное развитие может получить туризм, продажа лицензий на отлов и отстрел животных рыболовам и охотникам из соседних государств, что увеличит поступление валюты в нашу страну [1]. Однако разведению водоплавающих птиц в Республике Беларусь препятствуют заболевания различной этиологии, среди которых наиболее актуальными являются гельминтозы [5, 7]. Дикие птицы разных видов играют значительную роль в географическом распространении гельминтов, в поддержании природных очагов гельминтозной инвазии [3, 6]. Для увеличения численности популяций диких и домашних водоплавающих птиц в Республике Беларусь необходимо разработать эффективные биолого-экологические мероприятия по борьбе с гельминтами водоплавающих птиц. Для этого необходимо детально изучить видовой состав гельминтов диких и домашних уток, с анализом экологических факторов, оказывающих влияние на формирование гельминтофауны в условиях конкретной зоны Беларуси, механизмы циркуляции гельминтов водоплавающих птиц в окружающей среде [10, 11].

Материал и методы исследований. Гельминтофауна диких и домашних уток изучалась в 18 районах северной зоны Беларуси. Паразитологические исследования по изучению видового состава гельминтов диких и домашних птиц проводили методом полного и неполного гельминтологического вскрытия академика К.И. Скрябина (1928). Видовую принадлежность трематод, цестод, нематод и акантоцефал определяли общепринятыми методами, пользуясь определителем гельминтов К.М. Рыжикова (1967). Изучение гельминтологического материала проводилось в лабораториях кафедр паразитологии, зоологии и ветсанэкспертизы Витебской государственной академии ветеринарной медицины.

Результаты исследований. Результаты наших исследований показали, что видовой состав гельминтов у диких и домашних уток (экстенсивность и интенсивность инвазии) отличается по районам северной зоны Беларуси.

По разнообразию видового состава гельминтов, проценту зараженности, встречаемости гельминтов дикие утки доминируют над домашними. Дикие утки составляют единую таксономическую группу с домашними утками, имеют общие виды гельминтов (22 вида по результатам наших исследований, коэффициент фаунистического сходства Сьеренсена-Чикановского (K_s) составил 69,84%), накладываются друг на друга биотопы, что способствует циркуляции гельминтов среди водоплавающих птиц, созданию схожих паразитарных систем, природных очагов гельминтозной инвазии.

Тесные биотические отношения диких и домашних птиц между собой, а также с промежуточными хозяевами гельминтов обуславливают такое видовое разнообразие, а также высокий показатель фаунистического сходства гельминтов у птиц.

Наши наблюдения показали, что гельминтозная инвазия может быть занесена в водоемы, на которых выпасаются домашние утки, дикими птицами. Территорию северной зоны Беларуси пересекает трасса перелета диких птиц с Черного моря к Балтийскому и обратно. При гнездовании на водоеме или остановках на нем при перелетах дикие птицы могут заносить инвазию и создавать источник заражения для промежуточных хозяев. В циркуляции гельминтов диких и домашних уток в Республике Беларусь могут принимать участие разные виды диких птиц: скворец, синица, шилохвость, чирок, хохлатая чернеть, широконоса, нырок, чайка, лысуха, сойка, поганка, чернолобый сорокопуд, дрозд, глухарь, тетерев, рябчик, коростель, дятел, зяблик, воробей, сорока, чомга, ворона.

В настоящее время контакт диких водоплавающих птиц (чайки, дикие утки) и птиц из подсобных хозяйств населения на территории северной зоны Беларуси становится все более тесным.

Перечисленные выше обстоятельства способствуют интенсивной циркуляции гельминтов между дикими и домашними водоплавающими птицами (гуси, утки), а зачастую и куриными, что объясняет регистрацию у домашних уток не свойственных для них гельминтов: *Dicranotaenia coronula*, *Diorchis formosensis*, *Microsomacanthus compressa*, *Microsomacanthus paracompressa*, *Trichostrongylus tenuis*, *Epomidiostomum anatinum*, *Ganguleterakis dispar*.

На территории северной зоны Беларуси разные виды птиц принимают неодинаковое участие в распространении гельминтозной инвазии (трематодозной, цестодозной, нематодозной и акантоцефалезной) среди домашних уток. Наибольшая роль в распространении трематод, цестод, нематод домашних уток из числа диких птиц принадлежит крякве. Среди других видов диких птиц первое место по распространению трематодозной и нематодозной инвазии диких и домашних уток занимают чирки – 38,46% (из 13 видов у них зарегистрировано 5) и 27,27% (из 11 видов у них зарегистрировано 3) соответственно, цестодозной инвазии – нырки – 31,25% (из 16 видов у них зарегистрировано 5). В поддержании очагов акантоцефалезной инвазии среди домашних уток принимает участие кряква, другие виды диких птиц на территории северной зоны Беларуси участия не принимают.

Частая встречаемость отдельных видов гельминтов у диких и домашних уток в условиях северной зоны Беларуси обусловлена их высокой экологической пластичностью, адаптационной способностью и полным соответствием их экологическим условиям данной территории. Более того, широкое распространение данных видов у других видов птиц способствует накоплению инвазионных стадий этих гельминтов в окружающей среде (водоемах, выгулах) и значительно повышает вероятность заражения ими диких и домашних уток. Наши исследования показали, что высокой экологической пластичностью и адаптационной способностью в условиях

северной зоны Беларуси обладают следующие виды гельминтов: из трематод – *Echinostoma revolutum*, *Echinoparyphium recurvatum*, *Hypoderaeum conoideum*, *Notocotylus attenuatus*; из цестод – *Fimbraria fasciolaris*, *Microsomacanthus compressa*, *Microsomacanthus paracompressa*, *Microsomacanthus paramicrosoma*; из нематод – *Tetrameres fissispina*, *Amidostomum acutum*.

Поэтому при разработке системы оздоровительных мероприятий, а также составлении прогнозов возможного возникновения гельминтозов на экологии и биологии этих видов необходимо заострять внимание, поскольку они ввиду своей экологической и биологической пластичности способны достаточно быстро адаптироваться к новым местам обитания (районам) в изменившихся экологических условиях.

Наши наблюдения показали, что домашние утки, принадлежащие отдельным гражданам из обследованных районов, могут свободно перемещаться и посещать соседние дворы, имеют открытый доступ к естественным биотопам: болотам, мелким стоячим водоемам, лужам, канавам, заводям, которые интенсивно заселены промежуточными хозяевами гельминтов.

Редкая встречаемость отдельных видов гельминтов в гельминтологической системе диких и домашних уток на территории северной зоны Беларуси обусловлена тем, что они либо являются неспецифичными для диких и домашних уток на данной территории, либо сами по себе не являются аборигенными видами и только начинают приспосабливаться к условиям данного региона, либо занесены в наш регион перелетными птицами с мест зимовок последних (из других регионов нашего континента), либо, являясь аборигенными видами, имеют низкую встречаемость у других видов птиц, что снижает рассейвание и концентрацию инвазионного начала во внешней среде и вероятность создания природных очагов гельминтозной инвазии, а это в конечном счете уменьшает вероятность инвазирования уток отдельными видами гельминтов. Можно отметить тот факт, что все зарегистрированные у домашних уток виды нематод относятся к геогельминтам, то есть имеют прямой цикл развития. Мы склонны объяснить это тем, что в личных подсобных хозяйствах граждан, занимающихся разведением уток, как правило, отсутствует метод раздельного содержания маточного поголовья и молодняка, а практикуется длительное использование для выгулов водоплавающих птиц одних и тех же выпасных участков, находящихся в основном в переувлажненном состоянии. В сравнении с другими домашними птицами, утки неприхотливы, способны в большом количестве поедать зеленую траву, различные корнеплоды, сенную муку, сено и другие корма, которые могут быть контаминированы инвазионными стадиями геогельминтов.

Содержащиеся в таких условиях птицы, как правило, инвазированы нематодами из группы геогельминтов, которые характеризуются высокой плодовитостью, высокой устойчивостью их инвазионных стадий к воздействию абиотических факторов внешней среды и являются наиболее адаптированными, в данном случае к экологии хозяина, своим циклом развития (он прямой, без участия промежуточных хозяев).

Следует отметить, что как среди домашних, так и среди диких уток имеют место явления биоценологических связей родов разных классов гельминтов. Результаты наших исследований показали, что среди представителей 32 родов, включающих 41 вид гельминтов, отмечено 1148 взаимосочетаний.

Количественные показатели взаимосочетаний различных родов гельминтов с другими родами у диких и домашних уток на территории северной зоны Беларуси имеют следующий вид. Трематоды (роды): *Psilotrema* (8), *Prosthogonimus* (23), *Echinostoma* (93), *Echinoparyphium* (43), *Hypoderaeum* (37), *Notocotylus* (88), *Catantropis* (47), *Apatemon* (21), *Cotylurus* (31), *Bilharziella* (12), всего 403 взаимосочетания. Цестоды (роды): *Ligula* (7), *Aploraksis* (36), *Cloacotaenia* (18), *Diploposthe* (12), *Dicranotaenia* (44), *Diorchis* (17), *Drepanidotaenia* (24), *Fimbraria* (78), *Microsomacanthus* (144), *Mixolepis* (53), *Sobolevicanthus* (36), *Tschertkowitzia* (13), всего 482 взаимосочетания. Нематоды (роды): *Capillaria* (14), *Thominx* (32), *Hystrichis* (6), *Amidostomum* (42), *Syngamus* (9), *Trichostrongylus* (10), *Epomidiostomum* (31), *Ganguleterakis* (20), *Tetrameres* (88), *Echinuria* (5), всего 257 взаимосочетаний. Акантоцефалы (роды): *Polymorphus* (6), всего 6 взаимосочетаний. Наибольшее количество взаимосочетаний с другими родами гельминтов выявлено у следующих родов: *Echinostoma* (23,10%), *Microsomacanthus* (29,87%), *Tetrameres* (34,27%), наименьшее – *Psilotrema* (1,98%), *Ligula* (1,45%), *Echinuria* (1,94%). Первое место по частоте встречаемости перечисленных комбинаций у диких и домашних уток в северной зоне Беларуси занимают взаимосочетания цестод с трематодами, второе – трематод с цестодами и нематодами, третье – нематод с цестодами, трематодами и акантоцефалами.

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что по разнообразию видового состава гельминтов, проценту зараженности, встречаемости гельминтов дикие утки доминируют над домашними.

Общими для диких и домашних уток оказались 22 вида (K_s составил 69,84%). Наибольшая роль в распространении трематод, цестод, нематод домашних уток из числа диких птиц принадлежит крякве.

Среди других видов диких птиц первое место по распространению трематодозной и нематодозной инвазии диких и домашних уток занимают чирки – 38,46% (из 13 видов у них зарегистрировано 5) и 27,27% (из 11 видов у них зарегистрировано 3) соответственно, цестодозной инвазии – нырки – 31,25% (из 16 видов у них зарегистрировано 5). В поддержании очагов акантоцефалезной инвазии среди домашних уток принимает участие кряква, другие виды диких птиц на территории северной зоны Беларуси участия не принимают.

Высокой экологической пластичностью и адаптационной способностью в условиях северной зоны Беларуси обладают следующие виды гельминтов: из трематод – *Echinostoma revolutum*, *Echinoparyphium recurvatum*, *Hypoderaeum conoideum*, *Notocotylus attenuatus*; из цестод – *Fimbraria fasciolaris*, *Microsomacanthus compressa*, *Microsomacanthus paracompressa*, *Microsomacanthus paramicrosoma*; из нематод – *Tetrameres fissispina*, *Amidostomum acutum*.

Среди представителей 32 родов, включающих 41 вид гельминтов, отмечено 1148 взаимосочетаний.

Первое место по частоте встречаемости перечисленных комбинаций у диких и домашних уток в северной зоне Беларуси занимают взаимосочетания цестод с трематодами, второе – трематод с цестодами и нематодами, третье – нематод с цестодами, трематодами и акантоцефалами.

Литература. 1. Балобин, Б.В. *Практическое птицеводство: учеб. пособие* / Б.В. Балобин. – Минск: Ураджай, 1997. – С. 3–21. 2. *Ветеринарно-санитарная и экологическая оценка продукции водоемов комплексного назначения* / И.Р. Смирнова [и др.] // *Ветеринария*. – М., 2004. – № 11. – С. 39–44. 3. Котельников, Г.А. *Роль диких птиц в заражении*

гельминтами домашних уток / Г.А. Котельников // *Ветеринария*. – М., 1962. – № 9. – С. 38–40. 4. Линник, Л.М. *Птицеводство: учеб. пособие* / Л.М. Линник, Н.А. Стрибук, А.В. Вишневец; под ред. Л.М. Линник. – Витебск: ВГАВМ, 2005. – С. 4. 5. Орлов, И.В. *Гельминты органов и тканей сельскохозяйственных животных* / И.В. Орлов, О.В. Рыбалтовский, Н.Е. Косминков; под ред. И.В. Орлова. – М.: Колос, 1970. – 199 с. 6. Паудерс, В. *Роль диких водоплавающих птиц в распространении гельминтозной инвазии среди домашних водоплавающих птиц* / В. Паудерс, В. Михельсоне // *Труды Латвийской сельскохозяйственной академии*. – Рига, 1973. – Вып. 68. – С. 91–93. 7. Петроченко, В.И. *Гельминтозы птиц* / В.И. Петроченко, Г.А. Котельников. – М.: Сельхозиздат, 1963. – 248 с. 8. Петроченко, В.И. *Ветеринарно-гельминтологическая оценка водоемов в отношении возможного заражения в них птиц гельминтозами* / В.И. Петроченко, Г.А. Котельников // *Сборник н/техн. инф. ВИГИС*. – М., 1959. – № 6. – С. 12–20. 9. *Разведение и содержание уток: метод. реком.* / Я.С. Ройтер [и др.]; под общ. ред. Я.С. Ройтера. – Сергиев Посад: ВНИТИП, 2008. – С. 3–4. 10. Сторожева, А.М. *К возрастной и сезонной динамике основных гельминтозов домашних водоплавающих птиц и их профилактика* / А.М. Сторожева // *Птицеводство*. – 1957. – № 8. – С. 37–39. 11. Ятусевич, А.И. *Руководство по ветеринарной паразитологии* / А.И. Ятусевич [и др.]. – Минск: Техноперспектива, 2007. – 481 с.

Статья передана в печать 23.04.2015 г.

УДК 619:616.99:636.98

ХРОМОСОМНЫЕ МУТАЦИИ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ГОДОВИКОВ КАРПА ПРИ ИНВАЗИИ ЭКТОПАРАЗИТАМИ

Лобойко Ю.В., Стибель В.В.

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

*В статье приведены данные о частоте мутаций хромосом в клетках почек, крови и лимфоидного органа при различной интенсивности инвазии эктопаразитами. Установлено, что при поражении эктопаразитами *Lernaea cyprinacea* и *Dactylogyrus vastator* частота мутаций хромосом в клетках почек, крови и лимфоидного органа годовиков карпа значительно возрастает по сравнению с клинически здоровыми рыбами.*

*The article presents the data on frequency of chromosomal mutations in lymphoid structures and kidneys, blood under the conditions of different intensity of ectoparasites infestation. It is established that invasion of fishes by ectoparasites *Lernaea cyprinacea* and *Dactylogyrus vastator* significantly increases the level of fish genomic and chromosomal aberrations compared with clinically healthy fishes.*

Ключевые слова: карп, эктопаразиты, мутации, хромосомы, *L. cyprinacea*, *D. vastator*.

Keywords: carp, ectoparasites, mutations, chromosome, *L. cyprinacea*, *D. vastator*.

Введение. Значительный ущерб при выращивании карповых рыб наносят эктопаразитарные болезни, которые ухудшают физиологическое состояние рыб. Вследствие этого снижаются экономические показатели хозяйственной деятельности рыбоводческих хозяйств, уменьшается выход рыбы от посадки на выращивание, замедляются темпы ее роста. Поэтому, важным звеном в технологии товарного рыбоводства является организация и ведение постоянного контроля за состоянием выращиваемых рыб и принятие своевременных лечебно-профилактических мероприятий. Выращивание физиологически полноценной, здоровой рыбы в надлежащих санитарных условиях является залогом успешной деятельности рыбоводческих хозяйств [1,2].

Последние десятилетия характеризуются интенсивным развитием исследований в области цитогенетики у разных видов рыб. Важным достижением было обнаружение явления хромосомного полиморфизма, которое широко распространено у рыб. Однако механизмы, которые лежат в основе этих изменений, до сих пор не совсем понятны.

Микроядерное тестирование - один из эффективных методов, позволяющих определить суммарное действие токсикантов на структуру хромосом и выявить генетические изменения у конкретной особи. Хроническое воздействие неблагоприятных факторов на организм приводит к нарушениям цитогенетической стабильности и накоплению хромосомных аномалий в клетках организма. Кровотворная система рыб чутко реагирует на изменения экзогенных факторов. При патологических состояниях в крови рыб устанавливаются морфологические изменения клеточных элементов, клетки с разной степенью деструкции, в частности образованием микроядер. В качестве показателей дестабилизации хромосомного аппарата рыб используют микроядерный тест в эритроцитах [3].

Отмечено, что у рыб с определенной частотой встречаются клетки с хромосомными абберациями (разрывы, фрагментации), в связи с чем они считаются перспективными в использовании в качестве тест-объектов для цитогенетического мониторинга [6].

Хромосомный аппарат рыб, при всем его совершенстве, не остается неизменным, время от времени в генах и хромосомах происходят мутации - структурные изменения, которые передаются наследственно. По данным некоторых авторов, скорость мутационных процессов у рыб значительно повышается при действии биотических факторов, в частности паразитов рыб [4,5].

Однако, литературные данные свидетельствуют, что использование методов исследования кариотипа и образования спонтанных аббераций хромосом у карпа при действии эктопаразитов с целью цитогенетического мониторинга обособно недостаточно, что обуславливает актуальность исследований такого плана.

Поэтому, целью наших исследований было изучение влияния инвазии эктопаразитами на уровень хромосомных мутаций в соматических клетках годовиков карпа.

Материал и методы исследований. С целью определения уровня хромосомных мутаций в соматических клетках годовиков карпа при поражении эктопаразитами с разной степенью инвазии в аквариальных условиях проведены опытные исследования, в которых использовали спонтанно инвазированных возбудителями дактилогироза и лернеоза рыб.

Период акклиматизации рыб составлял 14 суток при температуре воды 16-18 °С. Перед выполнением эксперимента были проведены паразитологические исследования рыб и определены показатели уровня их инвазированности. Для этого было сформировано двенадцать групп (по три группы при моно- и смешанной инвазиях эктопаразитами *Lernaea cyprinacea* и *Dactylogyrus vastator*) рыб по 6 особей в каждой, массой тела 38,0±4,8 г. При моноинвазии *L. cyprinacea* рыбы первой группы были контрольными, второй – с интенсивностью инвазии до 0,08 лерней на 1 г массы тела (г м.т.), третьей – интенсивностью от 0,11 до 0,26 лерней на г м.т., четвертой – интенсивностью более 0,26 лерней на г м.т. рыбы. При моноинвазии *D. vastator* рыбы первой группы были контрольными, второй – с интенсивностью до 0,26 дактилогирусов на г м.т., третьей – интенсивностью от 0,29 до 0,53 дактилогирусов на г м.т., четвертой – более 0,53 дактилогирусов на г м.т. При смешанной инвазии рыбы первой группы были контрольными, второй – с интенсивностью инвазии до 0,08 лерней на г м.т. и до 0,26 дактилогирусов на г м.т., третьей – интенсивностью 0,11-0,26 лерней на г м.т. и 0,29-0,53 дактилогирусов на г м.т., четвертой – интенсивностью более 0,26 лерней г м.т. и 0,53 дактилогирусов на г м.т.

Ихтиопаразитологический анализ проводили по методу неполного паразитологического вскрытия по Е.И. Быховской-Павловской [7]. Видовую принадлежность паразитов определяли по «Определителю паразитов пресноводных рыб фауны СССР» [8].

Интенсивность инвазии (ИИ) определяли путем подсчета количества паразитов на теле и жабрах исследуемой рыбы.

Рыбу содержали в аквариумах емкостью 40 дм³ с искусственной аэрацией при температуре 18-20 °С. Уход за рыбой и ее кормление проводили согласно соответствующим нормам и рационам. В течение всего периода исследований наблюдали за поведением и клиническим состоянием рыб.

Для оценки состояния хромосом в качестве опытного материала использовали ткани почек и лимфоидного органа, из которых готовили препараты метафазных хромосом [9], поскольку они обладают высокой митотической активностью и рекомендуются для изучения хромосомного аппарата рыб.

Уровень хромосомных мутаций в соматических клетках годовиков карпа определяли согласно соответствующим методическим рекомендациям [10].

Для определения количества микроядер в эритроцитах каплю крови наносили на предметное стекло. Затем изготавливали мазки, высушивали на воздухе, фиксировали в метаноле в течение 10 минут и окрашивали по Гимзе. Подсчет проводили в %о [11].

Результаты исследований. Исследованиями установлено, что диплоидный набор хромосом в соматических клетках почек и лимфоидного органа $2n = 100$ хромосом. Он включает 18- метацентрических, 32 - субметацентричных, 28 - акроцентрических и 22 - телоцентрических. Количество хромосомных плеч NF - 150.

После анализа хромосомного аппарата рыб, зараженных эктопаразитами *L. cyprinacea* и *D. vastator*, обнаружены хромосомные aberrации и геномные мутации. Наиболее часто установлены нарушения структуры хромосом (эндоредупликанты, дицентрики, центрические кольца). Гипо- и гиперпloidные клетки были представлены в виде уменьшенного или увеличенного кариотипа, преимущественно на одну хромосому, полипloidных - увеличением количества хромосом, кратных гапloidному набору. Значительную часть геномных мутаций составляли гипопloidы артефактного происхождения за счет потерянных хромосом при приготовлении препаратов.

Исследованиями кариотипа соматических клеток почек контрольных рыб было установлено, что количество геномных мутаций составляло $2,96 \pm 0,19$ %, хромосомных aberrаций - $1,04 \pm 0,18$ % (таблица 1).

При инвазии *L. cyprinacea* до 0,08 экз./г м.т. в почках экспериментальных рыб проценты хромосомных aberrаций и геномных мутаций не превышали контрольные показатели. При интенсивности инвазии 0,11-0,26 экз./г м.т. процент хромосомных aberrаций был в 1,6 раза выше показателя контрольной группы ($P < 0,05$). При поражении $> 0,26$ экз./г м.т. процент геномных мутаций был в 1,3 раза выше, чем в контроле ($P < 0,05$). Количество хромосомных aberrаций превышало в 1,97 раза их число в контрольных ($P < 0,05$).

При исследовании геномных мутаций в лимфоидном органе рыб установлен их достоверный рост в 3-й и 4-й группах в 1,4 раза ($P < 0,05$) и 1,7 раза ($P < 0,01$), соответственно. Аналогичную тенденцию к росту хромосомных aberrаций наблюдали у рыб 3-й и 4-й опытных групп - в 2,3 ($P < 0,05$) и 3,0 раза ($P < 0,01$), соответственно.

Микроядерный тест за последние годы получил широкое признание при исследованиях прикладного мутагенеза, главным образом благодаря относительно простому приготовлению препаратов и быстрому их анализу. Примененная нами методика проведения микроядерного теста оказалась весьма надежной. В эритроцитах крови годовиков карпа отчетливо проявлялись микроядра.

Количество микроядер в эритроцитах крови годовиков карпа составляло $5,4 \pm 0,65$ %. В крови рыб 2-й опытной группы их количество было несколько повышено до $5,7 \pm 0,62$ %. Рост степени инвазии эктопаразитами *L. cyprinacea* обусловило достоверное увеличение количества микроядер в эритроцитах крови рыб 3-й и 4-й опытных групп на 35,7 % ($P < 0,05$) и 53,1 % ($P < 0,01$) соответственно.

Таблица 1 – Частота мутаций хромосом в клетках почек, крови и лимфоидного органа годовиков карпа, инвазированных *Lernaea cyprinacea*, % ($M \pm m$, n = 6)

Показатели	Группы рыб			
	1	2	3	4
ИИ, экз.	Контроль	до 0,08 экз./г м.т.	0,11-0,26 экз./г м.т.	> 0,26 экз./г м.т.
Почки				
Геномные мутации	2,96±0,19	2,84±0,31	3,58±0,21	3,76±0,25*
Хромосомные aberrации	1,04±0,18	1,18±0,12	1,67±0,14*	2,05±0,27*
Лимфоидный орган				
Геномные мутации	2,76±0,32	3,38±0,27	3,92±0,31*	4,58±0,24**
Хромосомные aberrации	1,12±0,38	1,29±0,15	2,59±0,27*	3,42±0,34**
Эритроциты				
Микроядра (на 1000 эритроцитов)	5,4±0,65	5,7±0,62	8,4±0,92*	11,5±1,44**

Примечания: * – P<0,05, ** – P<0,01

При инвазии дактилогирозами вероятных колебаний показателей хромосомных мутаций в клетках почек рыб не наблюдалось (таблица 2).

Таблица 2 – Частота мутаций хромосом в клетках почек, крови и лимфоидного органа годовиков карпа, инвазированных *Dactylogyrus vastator*, ($M \pm m$, n=6)

Показатели	Группы рыб			
	1	2	3	4
ИИ, экз.	Контроль	до 0,26 экз./г м.т.	0,29-0,53 экз./г м.т.	> 0,53 экз./г м.т.
Почки				
Геномные мутации	2,65±0,31	2,59±0,35	2,79±0,41	2,92±0,25
Хромосомные aberrации	0,98±0,28	1,08±0,15	1,17±0,32	1,05±0,44
Лимфоидный орган				
Геномные мутации	2,36±0,26	2,54±0,36	3,46±0,24*	3,88±0,27**
Хромосомные aberrации	1,14±0,38	1,23±0,35	2,57±0,33*	2,47±0,24*
Эритроциты				
Микроядра (на 1000 эритроцитов)	5,2±0,72	4,9±0,75	6,2±0,86	9,5±1,05**

Примечания: * – P<0,05, ** – P<0,01

Однако, отмечали достоверный рост геномных мутаций клеток лимфоидного органа у рыб 3-й и 4-й опытных групп: в 1,5 (P<0,05) и 1,6 раза (P<0,01). Одновременно возрастало количество хромосомных aberrаций в 3-й и 4-й опытных группах в 2,3 (P<0,05) и 2,2 раза (P<0,05).

При поражении рыб дактилогирозами достоверный рост количества микроядер в эритроцитах крови рыб установлен при интенсивности инвазии > 0,53 экз. / г м.т.- на 45,3 % (P<0,01).

При исследовании мутаций хромосом в тканях почек при смешанной инвазии был установлен достоверный рост геномных мутаций у рыб 3-й и 4-й опытных групп в 1,4 раза (P<0,05) (таблица 3). Вместе с тем, наблюдалось достоверное возрастание хромосомных aberrаций в клетках почек рыб 3-й и 4-й опытных групп, в 1,8 (P<0,05) и 2,4 раза (P<0,01). В клетках лимфоидного органа наблюдали достоверное возрастание показателей геномных мутаций во 2-й, 3-й и 4-й опытных группах, а именно в 1,5 (P<0,05), 1,9 (P<0,01) и 1,9 раза (P<0,001), соответственно. Аналогичная тенденция к росту отмечалась при исследовании хромосомных мутаций в клетках лимфоидного органа рыб 3-й и 4-й опытных групп, соответственно, в 2,3 (P<0,01) и 2,7 раза (P<0,001).

При исследовании количества микроядер в эритроцитах крови годовиков карпа при смешанной инвазии был установлен достоверный их рост в 3-й и 4-й опытных группах, соответственно на 42,1 % (P<0,05) и 58,9 % (P<0,01).

Результаты исследований показали, что при поражении годовиков карпа лернеями частота мутаций хромосом в клетках почек (P<0,05) и лимфоидного органа (P<0,05) (P<0,01) достоверно возрастала в 3-й и 4-й группах.

При поражении годовиков карпа дактилогирозами частота мутаций хромосом в клетках лимфоидного органа (P<0,05) (P<0,01) достоверно возрастала в 3-й и 4-й опытных группах.

При смешанной инвазии частота мутаций хромосом в клетках почек (P<0,05) (P<0,01) и лимфоидного органа (P<0,01) (P<0,001) достоверно возрастала в 3-й и 4-й опытных группах. Таким образом, можно сделать вывод о том, что после анализа хромосомного аппарата рыб, зараженных эктопаразитами *L. cyprinacea* и *D. vastator*, выявлено достоверное увеличение хромосомных aberrаций и геномных мутаций в 3-й и 4-й опытных

группах. Поражение рыб эктопаразитами приводит к ослаблению иммунной системы, сопровождается увеличением частоты генетических нарушений в клетках крови рыб. Следует отметить, что именно эритроциты крови являются наиболее чувствительной мишенью для воздействия паразитов. В этом контексте определение количества клеток с микроядрами позволяет оценить интегральное влияние достаточно широкого спектра эктопаразитарных инвазий на состояние пресноводных рыб. С методической точки зрения, сочетание гематологических и цитологических методов исследований для изучения рыб позволяет получить более точную информацию о механизме токсического действия эктопаразитов.

Таблица 3 – Частота мутаций хромосом в клетках почек, крови и лимфоидного органа годовиков карпа при смешанной инвазии *L. cyprinacea* и *D. vastator*, ($M \pm m$, n=6)

Показатели	Группы рыб			
	1	2	3	4
ИИ, экз.	Контроль	до 0,8 лерней / г м.т.; до 0,26 дактилогирисов / г м.т.	0,11-0,26 лерней / г м.т.; 0,29-0,53 дактилогирисов / г м.т.	> 0,26 лерней / г м.т.; > 0,53 дактилогирисов / г м.т.
Почки				
Геномные мутации	2,74±0,35	2,78±0,31	3,82±0,41*	3,78±0,25*
Хромосомные аберрации	1,12±0,23	1,79±0,18	2,07±0,32*	2,69±0,34**
Лимфоидный орган				
Геномные мутации	2,47±0,28	3,74±0,45*	4,71±0,43**	4,68±0,38***
Хромосомные аберрации	1,08±0,21	1,49±0,65	2,53±0,34**	2,89±0,27***
Эритроциты				
Микроядра (на 1000 эритроцитов)	5,1±0,62	6,7±0,48	8,8±1,04*	12,4±1,65**

Примечания: * – P<0,05, ** – P<0,01, *** – P<0,001

Заключение. При поражении годовиков карпа моно- и смешанной инвазией лернеями и дактилогирисами частота геномных мутаций, хромосомных аберраций и микроядер в клетках почек, лимфоидного органа и эритроцитах крови достоверно возрастала у рыб 3-й и 4-й опытных групп.

Литература. 1. Беліба, В. Г. Паразитофауна риб природних та штучних водоем Харківської обл. / В. Г. Беліба // Ветеринарна медицина. – 2006. – № 86. – С. 30–39. 2. Євтушенко, А. В. Аналіз паразитофауни риб басейну річки Уди. / А. В. Євтушенко // Ветеринарна медицина. – 2006. – № 86. – С. 142–149. 3. Давыдов О. М. Патология крови рыб / О. М. Давыдов, Ю. Д. Темниханов, Л. Я. Куровская – Фирма «Икос», 2006. – 206 с. 4. Тафійчук, Р. І. Исследование кариотипов в системе паразит-хозяин при филометроидозе карпа / Р. І. Тафійчук, К. В. Секретарюк // Сборник материалов международной конференции асоциации паразитологов СНГ, Витебск, – 1999. – С. 38. 5. Тафійчук, Р. І. Вплив нематоцидних препаратів на частоту та спектр хромосомних аберрацій в соматичних клітинах імункомпетентних органів коропа // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Львів-2012, Том 14, №2 (52). Ч. 1 – С. 334–337. 6. Ганасси, Е. Э. Проблемы хромосомного мутагенеза и цитологического мониторинга / Е. Э. Ганасси, С. И. Заичкина, О. М. Розанова // Радиобиол. – 1991. – Т. 31, – В. 6. – С.882–888. 7. Быховская – Павловская, Е. И. Паразиты рыб. Руководство по изучению / Е. И. Быховская – Павловская. – Л.: Наука, 1985. – 121 с. 8. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР: В 3 т. / Под ред. О.Н. Бауера. – Ленинград: Наука, 1987. – Т. 3: Паразитические многоклеточные. – Ч. 2. – 584 с. 9. Баршене, Я. В. Методические рекомендации по цитогенетическим исследованиям различных видов рыб в их ареалах / Я. В. Баршене // Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах ареалов. – Вильнюс. – 1981. – Часть IV. – С. 86–89. 10. Руководство по изучению генетических эффектов в популяции человека. Женева. ВОЗ, – 1989. – 121 с. 11. Житнева Л. Д. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб / Л. Д. Житнева, Т. Г. Полтавцева, О. А. Рудницкая. – Ростов н / Д: Ростовское кн. изд-во, 1989. – 112 с.

Статья передана в печать 31.03.2015 г.

УДК 619:616.995.132.2:636.1.053:612.11/.12

ВЛИЯНИЕ СТРОНГИЛОИДОЗНОЙ ИНВАЗИИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ КРОВИ И ФАКТОРЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ЖЕРЕБЯТ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ

Маковский Е.Г.

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

Стронгилоидозная инвазия приводит к изменениям морфологического состава крови и снижению активности клеточных и гуморальных факторов неспецифической защиты у жеребят первого года жизни.

Strongyloidiasis invasion leads to changes of morphological composition of blood and to reduction the activity of cellular and humoral factors of nonspecific protection in one-year old foals.

Ключевые слова: жеребята, стронгилоидоз, эритроциты, лейкоциты, гемоглобин, факторы неспецифической защиты.

Keywords: foals, strongyloidiasis, red blood cells, white blood cells, haemoglobin, factors nonspecific protection.

Введение. В настоящее время коневодство обеспечивает нужды различных хозяйств для выполнения ряда работ, поставляет лошадей для конного спорта, мясо и молоко используют для питания. Лошадь также используется как продуцент вакцин и сывороток в биологической промышленности. Способность лошадей эффективно использовать растительные корма, делает коневодство экономически выгодной отраслью животноводства.

В силу анатомо-физиологических особенностей лошади очень чувствительны к различным заболеваниям, особенно подвержен воздействию патологических агентов желудочно-кишечный тракт лошадей. Видное место среди патологий желудочно-кишечного тракта занимают заболевания, вызываемые гельминтами. Наличие гельминтозных инвазий у лошадей существенно отражается на их общем состоянии, приводя к снижению работоспособности, выносливости, защитных сил организма [1, 3].

Паразитарные болезни лошадей наносят значительный экономический ущерб коневодству. Между тем, хозяйства и владельцы животных не уделяют этому должного внимания. Инвазионные заболевания жеребят в возрасте от рождения до года составляют большой процент в ветеринарной патологии. Известно, что лошади, переболевшие в раннем возрасте каким-либо заболеванием, в том числе паразитарным, чаще имеют проблемы со здоровьем. Жеребят значительно сильнее поражают гельминты и другие паразиты, и переносят они заболевание тяжелее, чем взрослые лошади [2].

В Республике Беларусь большинство хозяйств являются неблагополучными по паразитозам, в частности по гельминтозам, и это обстоятельство негативно сказывается на эффективности ведения животноводства. Исследования, проведенные А. И. Ятусевичем, С. И. Стасюкевичем, М. П. Синяковым, свидетельствуют о широком распространении стронгилоидозной инвазии в нашей стране, так зараженность жеребят стронгилоидозом составляет до 50%, а в некоторых районах достигает 66,7% [3, 4, 5, 6]. По данным российских авторов, экстенсивность инвазии лошадей стронгилоидеями колеблется от 60 до 100% [7, 8].

Целью нашего исследования было изучение влияния стронгилоидозной инвазии на морфологический состав крови, а также формирование факторов неспецифической защиты у жеребят первого года жизни.

Материалы и методы исследований. Для достижения поставленной цели в нескольких хозяйствах Витебской области было сформировано по принципу условных аналогов 2 группы жеребят одномесячного возраста: 1 группа – клинически здоровые жеребята, 2 – жеребята, спонтанно инвазированные стронгилоидозом. Диагноз устанавливали на основании клинических признаков и результатов копроскопических исследований методами Дарлинга и Бермана-Орлова (в модификации Щербовича). Пробы крови у жеребят обеих групп отбирались на протяжении 12 месяцев. В крови определяли следующие показатели: содержание гемоглобина и эритроцитов (фотоэлектроколориметрическим методом), количество лейкоцитов (в счётной камере Горяева), лейкограмму (в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимза), фагоцитарную активность нейтрофилов (по методу Абрамова С.С. и др), бактерицидную активность сыворотки крови (по методу Мюнселя и Треффенса в модификации О.В. Смирновой и Т.А. Кузьминой), лизоцимную активность сыворотки крови (по методу Дорофейчука В.Г.) [9]. Исследования проводились на базе кафедр физиологии и паразитологии, а также в научно-исследовательском институте «Прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии» УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины».

Результаты исследований. Как показали наши исследования, у животных, больных стронгилоидозом, содержание эритроцитов и гемоглобина в крови было значительно ниже, по сравнению со здоровыми жеребятами. У животных первой группы количество эритроцитов увеличилось с $8,26 \pm 0,179 \cdot 10^{12}/л$ на 24,93% к двенадцатимесячному возрасту, а у животных больных стронгилоидозом количество эритроцитов увеличилось за этот период на 13,87%. При этом наименьшее количество эритроцитов отмечалось у животных обеих групп в 7 месячном возрасте: у здоровых жеребят оно снизилось до $6,62 \pm 0,139 \cdot 10^{12}/л$, у инвазированных животных – до $5,92 \pm 0,389 \cdot 10^{12}/л$.

Динамика содержания гемоглобина у здоровых жеребят свидетельствует о том, что в первые два месяца жизни его уровень достаточно высок и составляет 141,04±1,518 и 146,17±3,923 г/л, что обеспечивает наиболее активный обмен веществ и течение окислительно-восстановительных процессов. С возрастом, происходит снижение этого показателя до 132,59±4,349 г/л (на двенадцатом месяце жизни). Однако, у больных животных уровень гемоглобина достоверно ниже в первые два месяца жизни на 25,40% и 22,49%, а к годовалому возрасту эта разница снижается до 10,60%. Как показали результаты наших исследований, к двенадцати месяцам содержание гемоглобина у жеребят второй группы ниже, чем у животных, которые не перенесли данное заболевание. Из полученных данных видно, что у животных первой группы уровень эритроцитов и гемоглобина снижался в трех и семимесячном возрасте, а в дальнейшем отмечалась динамика к увеличению этих показателей. У жеребят второй группы наиболее низкие показатели отмечались в тех же возрастах, но при этом сохранялись на протяжении и следующих месяцев.

Содержание лейкоцитов в крови животных двух групп с возрастом увеличивалось, так у здоровых животных их уровень увеличился с $8,33 \pm 0,094 \cdot 10^9/л$ на 30,97%, а у животных второй группы – с $11,19 \pm 1,430 \cdot 10^9/л$ на 16,80%. Несмотря на то, что мы видим увеличение общего количества лейкоцитов у животных, больных стронгилоидозом, можно говорить о том, что здоровые животные наиболее полно и интенсивно реагируют на изменяющиеся условия окружающей среды.

Таблица 1 - Содержание эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов в крови здоровых и больных стронгилоидозом жеребят

Возраст, месяцев	Эритроциты, $10^{12}/л$		Гемоглобин, г/л		Лейкоциты, $10^9/л$	
	1 группа	2 группа	1 группа	2 группа	1 группа	2 группа
1	8,26±0,179	6,56±0,684***	141,04±1,518	105,21±11,035***	8,33±0,094	11,19±1,430***
2	9,32±0,203	7,73±0,569***	146,17±3,923	113,29±3,694***	12,92±0,121	15,21±0,426***
3	8,05±0,167	7,15±0,624**	121,03±3,355	101,61±2,670***	10,01±0,092	12,81±0,598***
4	8,17±0,088	6,86±0,234***	123,70±2,707	104,71±3,834***	9,48±0,060	11,61±0,370***
5	9,68±0,121	7,46±0,291***	129,30±1,730	108,54±3,780***	10,62±0,168	12,91±0,332***
6	10,59±0,165	7,63±0,438***	138,03±3,433	113,91±3,956***	11,02±0,253	13,05±0,471***
7	6,62±0,139	5,92±0,389***	105,59±2,101	94,73±2,978***	5,92±0,389	11,75±0,343***
8	6,73±0,262	5,88±0,469**	107,71±1,294	103,81±2,517**	9,24±0,144	10,94±0,553***
9	7,32±0,105	6,45±0,533**	116,99±3,214	109,84±3,251**	10,42±0,146	11,93±0,486***
10	8,29±0,325	6,61±0,534***	125,93±3,907	114,63±1,527***	10,39±0,157	11,35±0,728**
11	9,07±0,223	7,04±0,248***	129,79±2,836	116,57±3,320***	11,05±0,247	12,99±0,495***
12	10,35±0,356	7,47±0,554***	132,59±4,349	118,54±4,066***	10,97±0,373	13,07±0,464***

Примечание: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$ - по отношению к животным первой группы

Как видно из таблицы 1, в возрасте трех-четырёх и семи-восьми месяцев происходит снижение содержания лейкоцитов, причем у животных обеих групп. В результате чего в это время происходит снижение защитных и приспособительных реакций организма.

У животных, больных стронгилоидозом, отмечались определенные изменения в соотношении различных форм лейкоцитов, так количество базофилов, эозинофилов и палочкоядерных нейтрофилов было выше на протяжении всего периода исследований. У жеребят первой группы уровень базофилов на протяжении исследований увеличивался с $0,28 \pm 0,535\%$ в одномесечном возрасте, до $1,43 \pm 0,535\%$ на двенадцатом месяце жизни, а у инвазированных животных с $1,29 \pm 0,488\%$ до $1,71 \pm 0,488\%$. Количество эозинофилов в первый месяц составляло $2,71 \pm 0,488\%$ у здоровых жеребят, против $5,14 \pm 0,900\%$ у животных второй группы. Уровень эозинофилов на протяжении всего периода исследований у жеребят, больных стронгилоидозом, находился на достоверно более высоком уровне и к двенадцатому месяцу у больных животных составил $7,86 \pm 0,690\%$, что на $51,14\%$ выше, чем у здоровых жеребят этого же возраста. Количество палочкоядерных нейтрофилов в одномесечном возрасте у животных первой группы составило $4,71 \pm 0,756\%$, а у второй – $7,86 \pm 0,690\%$, к годовалому возрасту этот показатель снизился в обеих группах до $3,29 \pm 0,488\%$ и $5,00 \pm 0,577\%$, но при этом у инвазированных животных находился на более высоком уровне. Количество сегментоядерных нейтрофилов в первые два месяца жизни больных животных находилось на достаточно высоком уровне ($58,14 \pm 1,345\%$ и $55,43 \pm 1,512\%$), чем у здоровых жеребят ($53,43 \pm 1,397\%$ и $48,29 \pm 1,113\%$), что является результатом защитных приспособлений организма к паразитированию стронгилоидосов. В возрасте трех месяцев у жеребят второй группы количество нейтрофилов снизилось до $43,71 \pm 2,498\%$, и повышение их числа отмечалось только в 6 месячном возрасте. На протяжении дальнейшего периода исследований количество сегментоядерных нейтрофилов находилось на более высоком уровне по сравнению со здоровыми животными и к двенадцатому месяцу жизни их уровень составлял $51,71 \pm 2,215\%$, против $48,71 \pm 1,380\%$ у жеребят первой группы. Содержание лимфоцитов у инвазированных животных на протяжении всего периода исследований находилось на достоверно более низком уровне, так у животных первой группы уровень лимфоцитов на первом месяце жизни составлял $35,29 \pm 1,113\%$, а у второй – $24,14 \pm 2,268\%$, к двенадцатому месяцу жизни – $37,43 \pm 1,813\%$ и $32,29 \pm 1,380\%$, соответственно. Количество моноцитов в крови жеребят одномесечного возраста достоверно не отличалось у животных обеих групп и составляло $3,57 \pm 0,656\%$ и $3,43 \pm 0,535\%$, но к 12-месячному возрасту клинически здоровых животных уровень моноцитов составил $4,57 \pm 0,535\%$, а у животных второй группы - достоверно ниже на $31,29\%$.

При изучении влияния стронгилоидозной инвазии на формирование факторов клеточной защиты было установлено, что у больных жеребят в первый месяц жизни ФА нейтрофилов была на $10,58\%$ достоверно выше, чем у здоровых животных. Однако, как видно из рисунка 1, на протяжении последующего периода исследований, уровень ФА нейтрофилов снизился и не превышал показатели здоровых животных.



Рисунок 1– Изменение фагоцитарной активности нейтрофилов у здоровых и больных стронгилоидозом жеребят

Значения ФИ у животных обеих групп в первый месяц жизни достоверно не отличались (рисунок 2), однако у здоровых животных отмечается общая тенденция к увеличению этого показателя от $1,66 \pm 0,060$ в одномесячном возрасте, до $2,82 \pm 0,073$ в двенадцатимесячном. При этом ФИ у жеребят, больных стронгилоидозом, значительно не изменялся и колебался в пределах от $1,71 \pm 0,032$ до $1,42 \pm 0,056$, оставаясь на достоверно низком уровне.



Рисунок 2 – Изменение фагоцитарного индекса нейтрофилов у здоровых и больных стронгилоидозом жеребят

Как видно из рисунка 3, ФЧ у здоровых жеребят имеет тенденцию к увеличению и к годовалому возрасту повышается от $0,69 \pm 0,033$ до $1,06 \pm 0,053$. У жеребят, больных стронгилоидозом, ФЧ в первый месяц жизни достоверно выше, чем у здоровых и составляет $0,79 \pm 0,035$, однако к трехмесячному возрасту оно снижается до $0,45 \pm 0,035$ и сохраняется на таком уровне с небольшими колебаниями до конца исследований.

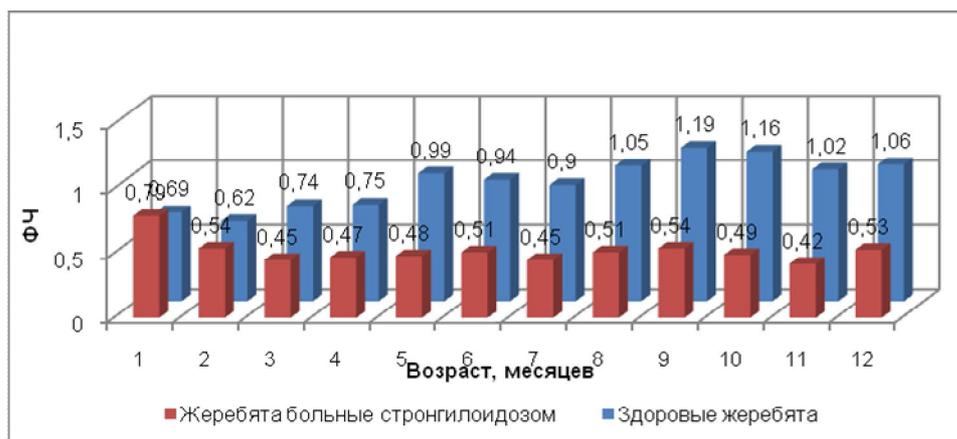


Рисунок 3 – Изменение фагоцитарного индекса нейтрофилов у здоровых и больных стронгилоидозом жеребят

Полученные данные свидетельствуют о снижении ФА, ФИ и ФЧ у животных, больных стронгилоидозом, что говорит о неблагоприятном влиянии паразитов на клеточные факторы защиты животных. Стронгилоидозная инвазия не только приводит к снижению неспецифических клеточных факторов защиты, но и препятствует их развитию, тем самым снижает естественную резистентность организма и осложняет процессы адаптации к условиям окружающей среды.

Бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови у больных стронгилоидозом животных на протяжении всего периода исследований находилась на более низком уровне, несмотря на возрастные изменения этих показателей в обеих группах. В первый месяц жизни жеребят показатель БАСК у животных, больных стронгилоидозом, был достоверно ниже на 10,51% и составлял $18,74 \pm 0,951$, к двенадцатимесячному возрасту его значение составило $26,17 \pm 2,662$, что на 28,96% ниже, чем у здоровых животных этого же возраста. На четвертом и седьмом месяцах жизни уровень БАСК достоверно снижался у жеребят обеих групп и составлял в первой – $18,66 \pm 0,276$ и $20,97 \pm 0,877$, во второй – $15,14 \pm 1,211$ и $15,40 \pm 2,704$.

ЛАСК у инвазированных животных находилась на низком уровне и в течение периода исследований колебалась от $7,79 \pm 0,782$ в начале исследований, до $8,31 \pm 0,227$ в последний месяц. При этом наименьшие значения этот показатель достигал на третий ($6,19 \pm 0,481$) и седьмой ($5,44 \pm 0,808$) месяцы жизни жеребят. У клинически здоровых жеребят ЛАСК в первый месяц жизни составляла $13,63 \pm 0,407$, на третьем месяце – $9,96 \pm 0,109$, в семимесячном возрасте – $11,63 \pm 0,502$, а к концу исследований – $19,46 \pm 0,516$. Изменения показателей БАСК и ЛАСК свидетельствуют о том, что стронгилоидозная инвазия приводит к снижению неспецифических гуморальных факторов защиты, тем самым снижает резистентность организма животных.

Эритропения, гипогемоглобинемия, абсолютный лейкоцитоз, базофилия, эозинофилия, нейтрофилия с простым регенеративным сдвигом ядра влево, уменьшение ФА, ФИ, ФЧ, а также БАСК и ЛАСК у жеребят, больных стронгилоидозом, свидетельствуют о снижении общей резистентности организма, что приводит к нарушению адаптационных способностей у жеребят первого года жизни

Заключение. Паразитирование стронгилоидесов в организме жеребят приводит к нарушению морфологического состава крови, а также снижению активности клеточных и гуморальных факторов неспецифической защиты, что в свою очередь снижает резистентность животных. По результатам проведенных исследований, можно утверждать, что наиболее критическими в жизни жеребят является 4 и 7 месяцы жизни. Соответственно, своевременное лечение и профилактика данного заболевания позволит получить наиболее устойчивый и адаптированный к действию вредных факторов молодняк.

Литература. 1. Паразитарные болезни лошадей / А.И. Ятусевич [и др.] ; под общ.ред. А.И. Ятусевича. – Минск: Учебно-методический центр, 1999. – 78с. 2. Бундина, Л. А. Паразитарные болезни жеребят / Л. А. Бундина // Коневодство и конный спорт. – 2005. - №1. – С. 12-13. 3. Ассоциативные паразитоценозы лошадей / А.И. Ятусевич[и др.] // Материалы 3 научно-практической конференции Международной ассоциации паразитоценологов. – Витебск: ВГАВМ, 2008.-С. 206-208. 4. Сinyaков М.П. Гельминты – пути для богатых / М.П. Сinyaков // Белорусское сельское хозяйство: научно-практический аграрный журнал. - №11, 2012. – С. 67-71. 5. Сinyaков М.П. Сравнительная эффективность антигельминтиков при кишечных нематодозах лошадей / М.П. Сinyaков, А.Д. Гринчик // Ученые записки Витебской государственной академии ветеринарной медицины. – Витебск, 2014. – Том 50, выпуск 1, часть 1. – С. 63-65. 6. Маковский, Е.Г. Ассоциативные паразитозы лошадей Полесского государственного радиационно-экологического заповедника / Е.Г. Маковский, С.И. Стасюкевич, М.П. Сinyaков, В.В. Петрукович // Ученые записки Витебской государственной академии ветеринарной медицины. – 2010. – Том 46, выпуск 1, часть 1. – С. 122-124. 7. Бундина, Л. А. Рекомендации по мерам борьбы со стронгилоидозом жеребят в коневодческих хозяйствах / Л. А. Бундина // одобр. Отд. Вет. Мед. Россельхозакад. 28 сент. 2006 г. 8. Кольцов И. В. Распространение гельминтозов сельскохозяйственных животных в Псковской области / И. В. Кольцов // Материалы междунар. Конф. Проф.-преп. Составы, науч. Сотрудников и аспирантов / СПб., 2005.- С. 46 – 47. 9. Карпуть, И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка / И.М. Карпуть. – Минск: Ураджай, 1993. – 288с.

Статья передана в печать 21.04.2015 г.

УДК 619:616.98:578.821.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО СРОКА ХРАНЕНИЯ ЖИДКОГО КОМПОНЕНТА АССОЦИИРОВАННОЙ СОРБИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСНОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ И МИКСОМАТОЗА КРОЛИКОВ

*Матлак Д.А.; **Корниенко Л.Е.

* УО «Белоцерковский национальный аграрный университет», Белая Церковь, Украина

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

Статья посвящена вопросу изучения гуморального иммунитета на введение инактивированного вируса геморрагической болезни кроликов. Авторами сделан вывод о том, что жидкий компонент экспериментальной сорбированной вакцины против вирусной геморрагической болезни и миксоматоза кроликов может в полной мере сохранять свои иммунологические свойства в течении 24-х месяцев.

The article focuses on the study of humoral immunity to the introduction of inactivated rabbit haemorrhagic disease virus. The authors concluded that the liquid component sorption experimental vaccine against viral hemorrhagic disease and myxomatosis in rabbits can fully retain their immunological properties within 24 months.

Ключевые слова: вирус, вакцина, геморрагическая болезнь кроликов, иммунитет, задержка гемагглютинации.

Keywords: virus, vaccine, rabbit hemorrhagic disease, immunity, rabbits, delay of hemagglutination.

Введение. Вакцинопрофилактика является самым эффективным и самым дешевым способом защиты животных от инфекционных болезней. Все поголовья сельскохозяйственных животных являются вакцинозависимыми, а недостаточное внимание к проведению профилактических иммунизаций неминуемо приводит к повышению инфекционной заболеваемости. Многие существующие вакцинные препараты, сохраняя свои названия, совершенствовались на протяжении многих десятилетий и сейчас значительно лучше своих предшественников. Но все без исключения вакцины не лишены недостатков и нуждаются в дальнейшем совершенствовании. При разработке новой вакцины судьбу препарата решают три основных фактора: возможность снижения заболеваемости и польза от применения вакцины; риск развития поствакцинальных осложнений и возможный ущерб от вакцинации; стоимость вакцины и экономическая выгода. Экономические затраты для проведения вакцинации в десятки раз ниже затрат, направленных на ликвидацию возникшего очага инфекционного заболевания. Современная профилактика является ярким примером преимущества превентивного способа защиты поголовья животных.

Среди многообразия видов животных заметное место, как в дикой природе, так и в хозяйственной деятельности человека занимают кролики. И не случайно: от них получают шкурки и пух, а крольчатина не только вкусна, но и полезна. Помимо этого кролики используются в качестве продуцентов биологических препаратов для медицины и ветеринарии, а также являются объектом научных исследований. Разведением кроликов занимаются государственные и частные предприятия и миллионы кролиководов любителей, академий медицинских и сельскохозяйственных наук, научно-исследовательских институтов многих стран мира. Организм кроликов обладает рядом биологических и физиологических особенностей. Из них следует выделить интенсивное развитие, плодовитость, скороспелость, отсутствие сезонности полового цикла, совмещение лактации с сукрольностью. Мясо кроликов отличается исключительно высокими питательными

качествами. По химическим, морфобиохимическим и технологическим качествам оно превышает мясо других животных. Белок кроличьего мяса усваивается на 90 %, тогда как говядины на 62%, убойный выход 4–5 мясных кроликов достигает 65–70% при соотношении костей к мышцам 1:1,2 и выходе мякоти 88–92%. Соотношение протеина к жиру у откормочного молодняка составляет 1:1,2–1,5; кислотность (рН) 6,3–6,6; влагоемкость 60–80%; толщина мясных волокон 27–32 мкм, что значительно тоньше, чем у говядины (45–47 мкм), и почти в два раза тоньше, чем у свинины (61–73 мкм). Оно рекомендуется в качестве диетического продукта детям, людям престарелого возраста, а также страдающим заболеваниями желудка, печени, сердечно-сосудистой системы. В мясе кроликов содержится минимальное количество холестерина (склеротического вещества) и в 2–3 раза больше лецитина, чем у других животных, который сдерживает синтез холестерина.

Список инфекционных болезней кроликов довольно внушителен. Одними из самых опасных вирусных инфекционных болезней являются вирусная геморрагическая болезнь кроликов и миксоматоз. Они широко распространены, наносят значительный урон крупным и мелким кролиководческим хозяйствам. А контроль данных заболеваний не возможен без применения профилактических препаратов - вакцин. Эпизоотологии вирусной геморрагической болезни кроликов присущи характерные особенности. К возбудителю чувствительны кролики возрастом 1,5 месяцев и старше независимо от пола и породы. Наиболее чувствительны взрослые, с массой тела 3,0 – 3,5 кг. Отмечено, что в начале эпизоотии вирусной геморрагической болезни кроликов первыми начинают болеть взрослые особи, затем поражаются все возрастные группы, за исключением подсосного молодняка, и летальность достигает практически 100% пораженных животных. В дальнейшем она несколько снижается и составляет 75-80% животных. Источником возбудителя являются больные и переболевшие кролики. Установлено, что экспериментально зараженные кролики погибают на второй день после заражения вирулентным вирусом, а находившиеся с ними клинически здоровые (интактные) кролики – на 5–6 сутки. Факторами передачи возбудителя инфекции могут быть корма, подстилка, навоз, почва, вода, инфицированные больными кроликами, а также пух и шкурки от больных животных и изделия мехового сырья, поступившие из неблагополучных относительно вирусной геморрагической болезни пунктов. При этом известно, что вирус может сохраняться в шкурках в течение трех месяцев хранения.

В настоящее время в ветеринарной практике широко применяют инактивированные (убитые) вакцины, производство которых основывается на современных достижениях биологической науки и технологических разработок. Производство и методы контроля таких препаратов стали достаточно сложными и трудоемкими, значительно выросло их качество и безопасность применения. При изготовлении инактивированных вакцин основной проблемой является получение большого количества, по возможности в нативном и концентрированном виде. Огромное значение придается стандартизации процесса производства вирусных вакцин, в связи, с чем постоянно совершенствуются методы контроля и ужесточаются требования к готовому препарату. Достигнутый уровень разработки эффективных препаратов не снимает проблемы их совершенствования и создания вакцин нового поколения. Разработкой вакцин с учетом новых научных принципов занимаются ведущие специалисты и крупные исследовательские центры многих стран мира. Этой области науки посвящены многие тысячи публикаций и патентов, в том числе первостепенной научной важности и особого практического значения.

Все вакцинные препараты против вирусной геморрагической болезни кроликов являются инактивированными и содержат в своем составе инактивированный (убитый) вирус. Живых вакцин против данного заболевания пока не существует. Отличительной особенностью данных препаратов является относительно высокая иммуногенная эффективность, если сравнивать их с живыми вакцинными препаратами. Даже при однократном введении в организм кроликов вакцины против геморрагической болезни способны вызывать напряженный продолжительный иммунитет, который сохраняется на протяжении 12-ти месяцев. Возбудителем вирусной геморрагической болезни является безоболочечный РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству калицивирусов. Размер вириона составляет 28 - 33 нм. С целью получения антигена, который будет использован в производстве вакцин против геморрагической болезни, используют печень и селезенку погибших после экспериментального заражения кроликов. В этих органах вирус накапливается в максимальных титрах. Все попытки получить вирус *in vitro* закончились неудачей. Первая формолвакцина против вирусной геморрагической болезни кроликов была разработана в 1985 году китайскими учеными, послужила прообразом целого ряда препаратов подобного типа. В России впервые инактивированная вакцина против геморрагической болезни была разработана под руководством В.И. Жестерева из ВНИИ Ветеринарной Вирусологии и Микробиологии. Этот препарат был создан и испытан в исключительно короткие сроки. Его широкое применение позволило быстро устанавливать устойчивый контроль над данной болезнью в России и сопредельных странах. В дальнейшем были разработаны А.А. Шевченко ассоциированные вакцины против миксоматоза и вирусной геморрагической болезни, пастереллеза и вирусной геморрагической болезни, которые промышленно производятся и в настоящее время.

Для предупреждения попадания возбудителя вирусной геморрагической болезни кроликов в хозяйства, специалисты ветеринарной медицины, руководители ферм (хозяйств), предприятий, организаций кролиководов-любителей и других организаций, которые содержат кроликов, обязаны проводить вакцинацию всего чувствительного к вирусу геморрагической болезни кроликов начиная с 1,5 месячного возраста, проводить систематическую проверку общего состояния животных. Строго придерживаться исполнения основных ветеринарно-санитарных правил в кролиководческих хозяйствах.

Вопрос запуска вакцины в производство решается с учетом всех ее особенностей: реактогенности, безвредности, иммуногенной и экономической эффективности препарата.

Инактивированные вакцины являются одними из самых безопасных иммунобиологических препаратов. Основное отличительное свойство данных препаратов - неспособность вызывать реверсию вирулентности. [1,2] Особенностью в производстве этих вакцин является строгий контроль полноты инаktivации, что связано с использованием патогенных штаммов микроорганизмов. В отличие от живых вакцин они являются более стойкими к перепадам внешней температуры. К недостаткам инактивированных вакцин можно отнести более

слабый иммунный ответ, по сравнению с живыми, и частая необходимость использования повторных (бустерных) иммунизаций, когда вакцину вводят повторно несколько раз через определенное время.

Даже при оптимальных условиях хранения, со временем иммуногенная активность инактивированных вакцин снижается. Поэтому важным моментом является определение оптимальных сроков хранения вакцинного препарата. Он должен сохранять свои иммунологические свойства на протяжении всего указанного термина хранения и обеспечивать полноценную защиту после введения в организм животных. [3,4]

Нами проведена работа по изучению иммуногенных свойств сорбированной суспензии вируса геморрагической болезни кроликов штамма "БГ-04" на разных временных отрезках хранения. А именно, после 3-х, 6-ти, 12-ти и 24-х месяцев.

Целью наших исследований было определение оптимального срока хранения жидкого (суспензионного) компонента экспериментальной ассоциированной вакцины против вирусной геморрагической болезни и миксоматоза кроликов на основе оценки гуморального иммунного ответа после введения в организм кроликов.

Материалы и методы исследований. Работа проводилась на базе ООО НПП "Био-Тест-Лаборатория" г. Киев Украина, в отделе тканевых и инактивированных вакцин и лаборатории кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней Белоцерковского национального аграрного университета. В опыте использовались серонегативные к вирусу геморрагической болезни кролики. Количество животных, использованных в опыте, – 75 голов. Для иммунизации животных использовали инактивированную сортированную суспензию (жидкого компонента) экспериментальной ассоциированной вакцины против геморрагической болезни и миксоматоза кроликов, которая содержала в своем составе инактивированный вирус геморрагической болезни кроликов штамма "БГ-04" с активностью 1280 ГАЕ в мл. Гемагглютинирующую активность определяли сразу после производства препарата. Образцы жидкого компонента хранили на протяжении 3-х, 6-ти, 12-ти и 24-х месяцев. Животные были разделены на группы: 1-я группа прививалась суспензией после 3-х месяцев хранения; 2-я группа после 6-ти; 3-я после 12-ти, 4-я после 24-х; 5-я группа не прививалась и использовалась в качестве контрольной. Суспензию вводили подкожно в области лопаток и объеме 1 мл. На 28-й день после иммунизации провели отбор проб сывороток с целью определения титра антител в реакции задержки гемагглютинации. Реакцию проводили согласно общепринятой методике.

Результаты исследований отображены в таблице 1.

Таблица 1 – Титры антител в реакции задержки гемагглютинации

Кролики №п/п n=15	Титр антител \log_2				контрольная группа
	суспензия после 3-х мес. хранения	суспензия после 6-ти мес. хранения	суспензия после 12-ти мес. хранения	суспензия после 24-х мес. хранения	
1	9,3	9,3	8,3	8,3	5,3
2	10,3	9,3	8,3	8,3	5,3
3	9,3	10,3	9,3	8,3	5,3
4	9,3	8,3	9,3	8,3	5,3
5	9,3	8,3	9,3	8,3	5,3
6	9,3	9,3	9,3	8,3	5,3
7	9,3	9,3	9,3	8,3	5,3
8	9,3	9,3	9,3	8,3	5,3
9	9,3	8,3	9,3	8,3	5,3
10	9,3	9,3	9,3	9,3	4,3
11	9,3	8,3	9,3	8,3	5,3
12	10,3	9,3	8,3	8,3	5,3
13	9,3	9,3	8,3	9,3	5,3
14	8,3	10,3	8,3	8,3	4,3
15	9,3	8,3	7,3	9,3	4,3
Средний титр \log_2 (M±m)	9,3 ± 0,45	9,1 ± 0,67	8,83 ± 0,63	8,5 ± 0,41	5,1 ± 0,41

В первой опытной группе средний титр составил $9,36 \pm 0,45 \log_2$, что на $4,26 \log_2$ (45%) больше, чем в контрольной, при значении $P < 0,05$.

Во второй опытной группе средний титр составил $9,1 \pm 0,67 \log_2$, что на $4,0 \log_2$ (44%) больше, чем в контрольной группе, при значении $P < 0,05$.

В третьей опытной группе средний титр составил $8,83 \pm 0,63 \log_2$, что на $3,73 \log_2$ (42%) больше, чем в контрольной группе, при значении $P < 0,05$.

В четвертой опытной группе средний титр составил $8,5 \pm 0,41 \log_2$, что на $3,4 \log_2$ (40%) больше, чем в контрольной группе, при значении $P < 0,05$.

После отбора проб всех привитых животных внутримышечно заразили контрольным штаммом "БГ-04" в дозе 1000 ЛД₅₀ и объеме 1 мл. Все зараженные животные на протяжении срока наблюдения (21-го дня) оставались клинически здоровыми без проявления признаков заболевания. Это подтверждает способность жидкого компонента сохранять свои защитные способности даже после 24-х месяцев хранения.

Заключение. Нами сделан вывод о том, что жидкий компонент экспериментальной ассоциированной сорбированной вакцины против вирусной геморрагической болезни и миксоматоза кроликов способен в полной мере сохранять свои иммуногенные свойства в течение длительного срока, а именно 24 месяца.

Литература. 1. Медуницин Н.В. Вакцинология / Н.В. Медуницин // Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Триада-Х, 2004 – 488 с. 2. Інфекційні та інвазійні хвороби кролів / Корнієнко Л.Є., Домбровський О.Б., Пономар С.І., Антипов А.А. — Біла Церква, 2003. – 288 с. 3. McLean et. all., Experiences in the production of poliovirus vaccines / McLean // Prog. Med. Virol. – 1958 –v. 1. – P – 122-164. 4. Saul K. Epidemiology / K. Saul // Amer. Journ. Hyd. – 1949 – Vol. 50. – P. – 285-295.

ПОЛУЧЕНИЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ТЕЛЯТ И КОНТРОЛЬ ЕЕ КАЧЕСТВА**Медведев А.П., Корочкин Р.Б., Зайцева А.В., Меньшикова В.М., Морозов Д.Д.**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

В статье изложен процесс получения вакцины по экспериментальной схеме и результаты контроля препарата на стерильность, безвредность и активность. Показана возможность получения качественного препарата по разработанной схеме и высокая достоверность контроля иммуногенности его на белых мышах.

The article states the process of manufacturing the vaccine based on an experimental scheme and results for control of its sterility, safety and activity. The vaccine manufacturing has been proved and its immunogenicity control on mice demonstrated.

Ключевые слова: штаммы, питательная среда, сальмонеллы, вакцина, стерильность, безвредность, активность, морские свинки, мыши.

Keywords: strains, media, salmonellae, vaccine, sterility, safety, activity, guinepig, pigeons, mice.

Введение. Производственная схема получения вакцины против сальмонеллеза телят предусматривает проверку производственных штаммов сальмонелл на их соответствие паспортным данным, приготовление питательных сред из говяжьего мяса, получение матровой раскладки бактерий, глубинное культивирование микроорганизмов в реакторе, инактивацию выращенных культур, добавление к ним определенных ингредиентов, расфасовку, укупорку, этикетировку и контроль качества препарата. Мы решили приготовить упомянутую вакцину по разработанной нами экспериментальной схеме, которая отличается от производственной тщательным отбором S-форм колоний бактерий и использованием их для получения матровой раскладки, применением ее в логарифмической фазе роста с достаточной концентрацией бактерий для засева среды в реакторе, приготовлением питательных сред из непищевого сырья, оптимизированным процессом глубинного культивирования сальмонелл, сокращенным сроком инактивации бактерий и их токсинов.

Кроме этого, приготовленную вакцину необходимо было испытать на стерильность, безвредность и активность, чтобы судить о пригодности экспериментальной схемы при получении препарата.

Материалы и методы исследований. В экспериментальной работе использовали питательные среды из непищевого сырья (мясо волов-продукторов гипериммунных сывороток), O - и H -агглютинирующие сальмонеллезные сыворотки, производственные штаммы сальмонелл: S. dublin 373, S. typhimurium 371, биореактор для культивирования бактерий, лабораторных животных: морских свинок, белых мышей.

Эксперименты провели с помощью общеизвестных в микробиологической практике микроскопических, бактериологических и серологических методов исследования.

Результаты исследований. Вакцина против сальмонеллеза телят представляет собой смесь культур производственных штаммов S. dublin 373, S. typhimurium 371, выращенных в бульоне Хоттингера реакторным способом, инактивированных формалином.

Вакцину против сальмонеллеза телят готовили по нижеприведенной экспериментальной схеме.

Работу по приготовлению вакцины начали с проверки производственных штаммов S. dublin 373 и S. typhimurium 371, хранившихся при 4°C в полужидком агаре в запаянных пипетках. Бактерии высевали в две пробирки с МПБ и культивировали при 37°C в течение 4 часов, затем делали пересев в две пробирки с МПБ и выращивали микроорганизмы в течение 5 часов. По окончании выращивания одну пробирку с культурой использовали для проверки тинкториально-морфологических, биохимических, культуральных, антигенных и других свойств бактерий, а культуру из другой - высевали на плотную питательную среду по Дригальскому с целью получения отдельных колоний. Чашки со средой помещали в термостат и спустя 18-20 часов вели просмотр выросшей культуры и тщательный отбор колоний S- типа. Из 7-8 отобранных колоний производили посев в 200-и граммовые флаконы, наполовину наполненные МПБ, и выращивали бактерии в течение 12 часов. Затем культуры из флаконов пересевали в 16-ти литровые баллоны, наполовину наполненные бульоном Хоттингера, и выращивали бактерии в течение 12 часов.

Одновременно с работой по подготовке матровой раскладки, определяли биологические свойства производственных штаммов сальмонелл и, убедившись в их соответствии паспортным данным, проводили засев питательной среды в реакторе.

Перед засевом питательной среды в реакторе определяли чистоту культуры матровой раскладки, концентрацию микробных клеток в 1 см³ и вносили необходимое количество литров ее в реактор из расчета 100 млн. м.к. на 1см³ среды. При этом культура матровой раскладки находилась в фазе логарифмического роста, что было определено чашечным методом Коха.

Глубинное культивирование сальмонелл вели с учетом данных, полученных в предыдущих опытах, т.е. при подаче воздуха в реактор из расчета 2 литра на 1 литр среды и скорости вращения мешалки 120-180 оборотов в минуту.

В процессе культивирования проверяли чистоту растущей культуры, корректировали значение pH и определяли концентрацию микробных клеток в 1см³.

Нам удалось в течение 8 часов получить культуру S. dublin с концентрацией 32 млрд. м. к. / см³, S. typhimurium с концентрацией 34 млрд. м. к. /см³.

Из полученных культур были приготовлены препараты-мазки, окрашены по Граму и подвергнуты микроскопии. В поле зрения микроскопа наблюдали палочковидные, грамтрицательные бактерии, располагающиеся одиночно, попарно, небольшими скоплениями.

В РА на стекле выращенные бактерии агглютинировались типоспецифическими сальмонеллезными агглютинирующими О- и Н- сыворотками, что являлось свидетельством их принадлежности к роду *Salmonella*.

Концентрацию выращенной бакмассы определяли путем добавления к 1 см³ ее физиологического раствора до получения 1 млрд. концентрации по стандарту мутности, а затем расчет производили по формуле (1):

$$C = V + 1, \quad (1)$$

где

C - концентрация микробных клеток в 1 см³ культуры;

V - объем физраствора, который добавили для разведения культуры до концентрации 1 млрд. м.к. / см³.

Выращенную бакмассу разводили стерильным физраствором до концентрации 4 млрд. м.к. / см³, руководствуясь формулой (2):

$$V = \left(\frac{C}{4} - 1 \right) \cdot П, \quad (2)$$

где

V - объем физиологического раствора в литрах, необходимый для разведения культуры до концентрации 4 млрд.м.к. в 1 см³;

П - количество культуры в реакторе в литрах;

C - концентрация микробных клеток в 1 см³ культуры в реакторе.

Инактивацию разведенных культур и их токсинов проводили путем добавления 0,1 % димерэтиленимина, последующего перемешивания и выдерживания при 37°C в течение 5 часов.

Полноту инактивации бактерий определяли высевом на питательные среды, а их токсинов - путем введения культур белым мышам.

После инактивации культуры сальмонелл вносили в отдельный реактор в соотношении 1:1 и тщательно перемешивали. Эта смесь и представляла собой вакцину против сальмонеллеза телят. Путем посева вакцины на питательные среды определяли ее стерильность и расфасовывали в 200-и граммовые флаконы, закрывали резиновыми пробками, обкатывали металлическими колпачками, этикетировали. Расфасованную вакцину проверяли на стерильность, безвредность и активность.

Для определения стерильности из 5-ти флаконов с вакциной делали высевы ее по 0,1-0,2 см³ в 2-е пробирки с МПА, МПБ, средой Сабуро, Китт-Тароцци и по 12 см³ во флаконы с МПБ, средой Китт-Тароцци (по 50 см³ среды во флаконе). Высевы помещали в термостат и через двое суток делали пересевы на МПА, в МПБ и МППБ. Первичные посевы выдерживали в термостате 10 суток, пересевы - 8 суток. При отсутствии роста в питательных средах вакцину считали стерильной.

Безвредность вакцины определяли на 5 белых мышках и 3 морских свинках. Мышам массой 16- 18 г вакцину вводили подкожно в области спины в дозе 0,5 см³. Морским свинкам массой 350-400 г вакцину инъецировали подкожно в области паха в дозе 5 см³. Препарат считали безвредным, если все животные оставались клинически здоровыми в течение 10 суток наблюдения за ними. Приготовленная по экспериментальной схеме вакцина оказалась стерильной и безвредной.

В производственных условиях активность вакцины определяют в отношении каждого серотипа сальмонелл, входящих в состав препарата. Активность в отношении *S. dublin* и *S. typhimurium* проверяют на морских свинках. Для этого на каждый серовар используют по 6 морских свинок, которых иммунизируют проверяемым препаратом. Затем, через 16-20 дней вакцинированных животных и одновременно по 3 интактных свинок к каждому серовару (контроль) заражают 2 ЛД₅₀ соответствующего сероварианта сальмонелл. Препарат считают активным при выживании не менее 4-х вакцинированных свинок и гибели не менее 2-х контрольных животных. Вакцинированные животные должны оставаться живыми в течение 7 дней после падежа последней свинки в контроле.

Описанный метод контроля активности препарата имеет определенные недостатки. Морские свинки являются весьма устойчивыми к сальмонеллам. Для морских свинок массой 350-400 г смертельная доза *S. dublin* колеблется в пределах 3,5-4 млрд. м.к., а *S. typhimurium* – 2-4 млрд. м.к. К тому же, в опытах по определению активности препаратов используют небольшое количество животных. Поэтому применяемый способ контроля активности препаратов позволяет лишь приближенно судить об их истинной иммуногенности, т.е. с достоверностью 50-70%.

Учитывая отмеченное, мы сочли целесообразным разработать способ контроля активности вакцины против сальмонеллеза телят на белых мышках. Мыши высокочувствительны к сальмонеллам и их воспроизводство и содержание менее затратно и трудоемко, чем других видов лабораторных животных. Они не являются остродефицитными для лабораторий и предприятий страны.

Работа была начата с подбора минимальной иммунизирующей дозы вакцины против сальмонеллеза телят, обеспечивающей выживание не менее 8 мышей из 10 вакцинированных, при гибели не менее 8 из 10 контрольных, т.е. не вакцинированных.

С целью предложения более объективного метода контроля активности вакцины против сальмонеллеза телят мы поставили опыт, схему проведения которого и его результаты отражает материал таблицы 1.

Таблица 1 - Выживаемость и гибель мышей, вакцинированных разными дозами препарата

Доза вакцины (см ³)	Количество мышей на дозу	Выживаемость и падеж мышей в отношении			
		<i>S. dublin</i>		<i>S. typhimurium</i>	
		выжило	пало	выжило	пало
0,01	10	1	9	2	8
0,1	10	6	4	7	3

0,2	10	7	3	8	2
0,3	10	9	1	10	0
0,4	10	9	1	9	1
0,5	10	9	1	10	0
контроль	10	1	9	0	10

Материал таблицы 1 позволяет утверждать, что доза препарата 0,3 см³ при подкожном введении мышам является минимальной и предохраняет от падежа 90 – 100% мышей при падеже 90 – 100% их в контроле.

Разрабатываемый метод контроля активности апробировали при определении иммуногенности препаратов, полученных по экспериментальной и производственной схемам, а также 3-х проб опытной серии вакцины, фальсифицированной путем разведения ее стерильным физраствором на 30% (проба 1), 50% (проба 2) и 70% (проба 3). Данные опыта представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Иммуногенность производственной и экспериментальной вакцин и фальсифицированных проб препарата

Вакцины, пробы препарата	Доза (см ³)	Количество животных на дозу	Выживаемость и гибель животных в отношении			
			S. dublin		S. typhimurium	
			выжило	пало	выжило	пало
Опытная	0,3	10	10	0	9	1
Производственная	0,3	10	9	1	8	2
Проба 1	0,3	10	2	8	4	6
Проба 2	0,3	10	2	8	1	9
Проба 3	0,3	10	2	8	1	9
Контроль		10	0	10	1	9

Данные таблицы 2 свидетельствуют, что у вакцинированных опытной и производственной вакцинами мышей формируется довольно стойкий иммунитет, т.е. заражение животных спустя 16 суток после вакцинации предохраняет от гибели 80 – 100% опытных животных, при гибели 90-100% контрольных особей. Фальсифицированная физраствором опытная вакцина (проба 1) защищает от падежа 20-40% опытных животных, в то время как пробы 2 и 3 предохраняют падеж лишь 10-20 % особей.

Заключение. По экспериментальной схеме получена стерильная, безвредная, активная вакцина против сальмонеллеза телят. Разработан метод контроля активности вакцины на белых мышах, позволяющий оценивать ее иммуногенность с достоверностью 80 – 90%.

Литература. 1. Мурадова, Е.О. Микробиология / Е.О. Мурадова, К.В. Ткаченко. - ЭКСМО, 2009. - 336 с. 2. Справочник по применению вакцин, зарегистрированных в Республике Беларусь, против инфекционных болезней крупного рогатого скота, лошадей, плотоядных и животных разных видов / В.В. Максимович [и др.] – Минск: Техноперспектива, 2006. - 166 с. 3. Ходр Мунзер Мухаммад. Получение препаратов на основе антигенов сальмонелл и контроль их активности. Автореферат-дис. на соиск. уч. ст. канд. вет. наук. – Витебск: УО ВГАВМ, 2014. – 21 с.

Статья передана в печать 10.03.2015 г.

УДК 619:616.98:578.842.1 (476)

МЕЖДУНАРОДНЫЙ ПОДХОД К ПРОБЛЕМЕ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Морозов Д.Д.

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

В статье отражены современные взгляды международных экспертов на африканскую чуму свиней и приведены подходы к профилактике и ликвидации заболевания, согласно международным стандартам. Представлены сведения о проекте международной технической помощи ФАО Республике Беларусь по борьбе АЧС.

In the article the up to date international experts' opinions on ASF and approaches for prevention and eradication of ASF in compliance with the international standards have been presented. The data on FAO international technical assistance to the Republic of Belarus to eradicate ASF outbreaks have been stated.

Ключевые слова: ФАО, МЭБ, африканская чума свиней, профилактика, ликвидация биобезопасность, дикие свиньи.

Keywords: FAO, OIE, African swine fever, prevention, eradication, biosecurity, wild boars.

За последнее время количество стран и масштабы территорий, где были зарегистрированы вспышки африканской чумы свиней, значительно расширились. Все прогнозы, ранее составляемые ветеринарными

экспертами разных стран, идут по самому пессимистическому сценарию. В 2013 году с проблемой столкнулась Республика Беларусь, а в 2014 году вирус пересек границу ЕС и закрепился в странах Балтийского региона, вызвав вспышки заболевания и гибель как в популяции диких кабанов, так и у домашних свиней.

Озабоченность мирового ветеринарного сообщества этой проблемой выразилась тем, что только за последние 1,5 года прошло беспрецедентное количество международных встреч в целом по трансграничным болезням животных, и АЧС в частности. Наиболее важными из них являются: создание Глобальной платформы по АЧС под эгидой ФАО/МЭБ/ЕС/USAID, Глобального научно-исследовательского альянса по АЧС - GARA, реализация международного проекта ASFORCE с колоссальным бюджетом, финансируемого Еврокомиссией, проект МАГАТЭ по новейшим методам лабораторной диагностики, ряд международных встреч в штаб-квартире МЭБ и ФАО, создание постоянно действующей международной группы экспертов по Восточной Европе GF-TADs и ее регулярные встречи на территории стран, где были отмечены вспышки. Научный и консультативный орган ЕС – Европейское агентство по безопасности пищевой продукции – EFSA провел несколько встреч рабочих групп экспертов разных стран по оценке рисков распространения вируса на Европейском континенте и роли диких кабанов в этом процессе. После всех этих мероприятий информация публикуется, обсуждается в компетентных кругах, используется в качестве научного взгляда и применяется в современном международном ветеринарном законодательстве. Отдельное направление работы по теме африканской чумы свиней - это реализация проектов международной технической помощи под эгидой ФАО в странах, где были отмечены вспышки АЧС.

У АЧС имеется очень большой трансграничный потенциал, т.к. в настоящее время огромен масштаб глобальной торговли продуктами животного происхождения, куда подключено большое количество стран, включая Беларусь, кроме того, во многих странах все еще имеет место нелегальная торговля инфицированными продуктами свиноводства. Вирус АЧС способен преодолевать расстояния в сотни и тысячи километров от первоначального источника, беспрепятственно пересекать границы сопредельных государств.

Особое значение эта болезнь приобретает в странах с развитым свиноводством и, особенно, экспортирующей свинину. Страна, имеющая на своей территории вспышки АЧС, выключается из экспортного рынка свинины и несет как прямые, так и косвенные потери. Там же, где свиноводство направлено исключительно на внутренний рынок, например Российская Федерация, отрасль не испытывает на себе последствий неизбежного введения запрета на экспорт продукции, а значит отсутствуют достаточные экономические стимулы для борьбы с АЧС и ее искоренения.

Хозяйства с низким уровнем биологической защиты являются основной средой, в которой происходит циркуляция вируса АЧС. Полноценный ветеринарный контроль в этой деятельности затруднен в принципе, а в условиях карантинных ограничений эта сфера полностью уходит в тень. Роль дикого кабана представляет собой площадку для дискуссий во время многочисленных совещаний и до сих пор нуждается в научных исследованиях.

В международных литературных источниках отмечается, что если в какой-либо стране длительно отмечается циркуляция вируса, то проявление клинических признаков болезни будет происходить совсем не по описанному в классической литературе сценарию. Распознавание симптомов, а значит, и выявление вспышек будет затруднено, а также и само отношение к болезни будет не адекватным. Уже сейчас на экспертных встречах можно услышать разные мнения по вопросу как быть с АЧС: полностью ликвидировать или можно с ней как-то сосуществовать?

Международные организации за последние годы провели большую работу по организации тренингов для специалистов государственных ветеринарных служб многих стран по эффективному эпидемиологическому надзору, раннему выявлению вспышек и быстрым ответным действиям, современной лабораторной диагностике, квалификационные тесты, проводимые национальными лабораториями под руководством Референтной лаборатории МЭБ/ЕС в г. Мадриде (Испания).

ФАО и МЭБ разработали и опубликовали ряд руководств и рекомендаций по теме АЧС, например, по анализу и оценке рисков, составлению Национальных планов контроля за АЧС, руководство по современной диагностике и т.д.

В настоящее время выводы международных экспертов по теме АЧС сводятся к следующему:

- Искоренение АЧС затянется на годы, если не на десятилетия;
- Вирус продолжит распространение и укоренение;
- В зоне риска все страны с традиционным свиноводством, особенно, где много ЛПХ (Украина, Беларусь, Казахстан, Прибалтика, Польша, Румыния, Болгария, Молдова);
- Вовлечение дикого кабана представляет серьезную дополнительную угрозу;
- Каждая вспышка должна заявляться в МЭБ (OIE);
- Вакцины нет и не ожидается еще очень долгое время;
- Контроль и ликвидация болезни основана, главным образом, на массовом уничтожении свиней;
- Поголовье свиней в любой стране, где происходит вспышка, существенно уменьшается, в результате увеличивается импорт свинины;
- Т.к. является международной угрозой/проблемой, ее ликвидация и контроль находится под международным наблюдением;
- Стоимость ликвидации (прямые и косвенные затраты) очень высока и возрастает в зависимости от времени выявления и применяемой политики и стратегии по ликвидации;
- Долгое присутствие вируса в стране означает, что страна вскоре потеряет свою квоту свинины на рынке экспорта;
- Роль дикого кабана нуждается в тщательном и грамотном изучении в полевых условиях.

С 2014 года по настоящее время в Беларуси реализуется проект технической помощи ФАО: «Экстренное содействие по контролю вспышек африканской чумы свиней в Республике Беларусь», разработанный при консультации с государственной ветеринарной службой Беларуси, предоставляет содействие и усиление компетенции по контролю текущих вспышек, а также улучшит возможности

бенефициаров проекта справляться с возможными будущими вспышками, не прибегая к внешней помощи. Бюджет проекта составляет 420 000 долларов США.

ФАО, как агентство Организации Объединенных Наций, специализирующееся на здоровье животных, - это главное агентство ООН для немедленной международной интервенции в данной области, а также имеет практический опыт по реализации содействия в животноводческом секторе всего мира, включая страны Европы и Средней Азии.

За время реализации проекта проведено несколько миссий экспертов ФАО в Республику Беларусь. Состоялись встречи в Министерстве сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, проведены семинары-тренинги по тематике АЧС, где присутствовали заместители министра сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, представители Главного управления внешнеэкономической деятельности Минсельхозпрода, Департамента ветеринарного и продовольственного надзора, ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр», ГУ «Белорусское управление государственного ветеринарного надзора на государственной границе и транспорте», ГУ «Ветеринарный надзор», управлений/отделов ветеринарии областных комитетов по сельскому хозяйству и продовольствию облисполкомов, областных лабораторий, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», факультетов ветеринарной медицины УО ВГАВМ и УО ПГАУ.

В ходе указанных мероприятий освещались вопросы текущей ситуации по АЧС в Республике Беларусь, представлены используемые и новые протоколы надзора за АЧС, разработанные ФАО и МЭБ, роль диких кабанов и их депопуляции в распространении вируса, обсуждались возможные дальнейшие стратегии государства по контролю за болезнью, акцентировалось внимание на потенциальных рисках. В Республике Беларусь в августе 2013 года было принято Постановление Совета Министров Республики Беларусь 29.08.2013 г. № 758, которое регулярно обновлялось и дополнялось в связи с изменением текущей ситуации и приобретения опыта его применения. Международные эксперты проводили анализ имеющегося законодательства и давали рекомендации по его совершенствованию, согласно международным стандартам. Большое значение имеет имплементация законодательства на практике.

Отмечалось, что до вспышек АЧС в Беларуси свиноголовье составляло 3.9 млн., 25% которых (около 1млн.) было в личных подсобных хозяйствах граждан (ЛПХ) и 75% в общественном секторе. Личные подсобные хозяйства граждан во всех странах мира рассматриваются международными организациями как наиболее уязвимый сектор и, соответственно, важный источник АЧС для крупных коммерческих комплексов, нежели чем дикие кабаны.

В Республике Беларусь до появления болезни обитало около 80 тысяч голов дикого кабана, но плотность поголовья относительно низкая – 1-1,5 животных на кв. км. Эти животные распространены, формируя одну биогеографическую мета-популяцию, которая также включает Россию, Польшу, Балтийские страны и Украину. Лесная среда обитания поддерживается непрерывностью, проходя через все эти страны. Наличие хищников и относительно низкая плотность диких кабанов снижают вероятность нахождения мертвых животных. Это обозначает, что вирус АЧС может распространяться длительное время у диких кабанов, прежде чем быть обнаруженным. Для этих целей могут и должны применяться новые подходы, такие как, например, неинвазивный отбор проб.

Личные подсобные хозяйства граждан часто имеют низкие меры биобезопасности. Число свиней в частном секторе прогрессивно возрастает от востока к западу страны и является достаточно высоким в тех областях, где отмечены вспышки. Это способствует высокому риску, что АЧС может стать эндемической в Республике Беларусь, как это имеет место в Российской Федерации.

Подчеркивалось, что крупные коммерческие комплексы характеризуются варьированием от высокого до среднего уровня их биобезопасности. Тем не менее, вспышка АЧС была зарегистрирована на ферме с высоким уровнем биобезопасности и существует риск попадания вируса на другие крупные фермы, если АЧС недостаточно эффективно контролируется в других секторах.

Говорилось о необходимости внедрения системы централизованной регистрации всех свиноферм (включая ЛПХ) и идентификации свиноголовья, как необходимых атрибутов для выполнения эффективного эпидемиологического прослеживания. В Беларуси пока не разработана пространственная географическая информационная система (ГИС), которая бы включала информацию обо всех свинофермах, популяции дикого кабана, факторов риска для распространения болезни и любой другой эпидемиологически значимой информации. Отсутствие такого инструмента поддержки решений снижает эффективность надзора, анализ и расследование вспышек, а также реализацию своевременных, эффективных и достаточных мер контроля. В настоящее время официально подтверждены 2 вспышки болезни, но учитывая ситуацию вблизи границ Беларуси, наиболее вероятно, что вирус присутствует на территории республики и может распространяться дальше.

Если эффективно не сдерживать, то АЧС может легко разнестись по всей стране и другим странам Восточно-европейского региона и иметь длительный отрицательный прямой эффект на результативность свиноводческой промышленности и непрямой эффект на продовольственную безопасность стран.

Главным эффектом от реализации проекта в Республике Беларусь должна стать улучшенная продовольственная безопасность и возросший доход населения сельской местности. Реализация данного эффекта будет достигнута за счет того, что вспышки АЧС в Республике Беларусь будут купироваться в своевременной и рентабельной манере, дальнейшее распространение заболевания будет предупреждаться за счет усиления диагностических навыков и эффективного менеджмента при вспышках АЧС, а также разработки и внедрения системы ГИС в качестве инструмента-помощника в принятии решений для эпизоотологов центрального и местного уровней при планировании и реализации мероприятий. Население и организации, выращивающие свиней, будут иметь более высокую осведомленность по предупреждению и контролю АЧС.

Проект предусматривает следующие мероприятия:

- Предоставление технического руководства для государственной ветеринарной службы по управлению вспышками АЧС.

- Содействие по расследованию вспышек и консультации по прогнозированию вероятного распространения, быстрого купирования болезни и надлежащего контроля.
 - Организация семинаров-тренингов по повышению квалификации в области оценки риска появления вируса АЧС и механизмов его передачи, раннего распознавания и надзора за АЧС, диагностики, ликвидации, планирования на местном и центральном уровнях, надзора у диких кабанов.
 - Обзор различных подходов к протоколам надзора за АЧС у домашних и диких животных.
 - Организация тренингов для ветеринарной службы по новым протоколам надзора за АЧС, эпидемиологии, отбору проб, расследованию и менеджменту при вспышках.
 - Реализация тренингов/обучающих туров для сотрудников лабораторий в референтную лабораторию ЕС/МЭБ/FAO по диагностике АЧС в г. Мадрид, Испания.
 - Организация последующих национальных тренингов по диагностике АЧС, используя молекулярно-биологические методы, ИФА, иммунофлуоресцентный метод в национальной ветеринарной лаборатории.
 - Предоставление Республике Беларусь современного оборудования для диагностики АЧС, расходных материалов, диагностических наборов с целью обучения точному и своевременному обнаружению вируса АЧС и КЧС, а также антител к ним.
 - Разработка национальной информационной базы данных, включающей реестр всех свиноферм, карты свиноголовья и другую эпидемиологическую информацию с целью управления вспышками и надзора.
 - Создание национального инструмента поддержки принятия решений – ГИС, как готового к использованию помощника для эпизоотологов Департамента ветеринарного и продовольственного надзора и областных управлений (отделов) ветеринарии в их ежедневной работе, управлении при чрезвычайных ситуациях и планировании.
 - Организация и проведение тренингов по эпидемиологическому расследованию вспышек АЧС, применяя инструмент ГИС для эпизоотологов центрального и областного уровней, задействованных в реализации плана по предупреждению и контролю АЧС.
 - Подготовка и распространение материалов для осведомления/обучения (брошюры, буклеты, презентации, пресс-релизы, объявления на радио и ТВ и т.д.) по предупреждению и важности заявления об АЧС для владельцев свиней, ветеринаров, мясников, охотников и общественности.
- Проект поможет текущим усилиям государства по сдерживанию вспышек АЧС и предотвращению дальнейшего распространения болезни. Будет применяться такой подход как «*тренинг других тренеров*» и «*изучай, делая практически*». Будет налажено партнерство со специализированными исследовательскими институтами и ассоциациями для достижения целей проекта и устойчивости этой системы после окончания проекта.

Литература. 1. FAO. 2014. Африканская чума свиней в Российской Федерации (2007-2012 гг.) Эпидемиологический обзор и последствия для стран Европы. FAO Животноводство и охрана здоровья животных, Документ №178. Рим. 2. Постановление Совета Министров Республики Беларусь №758 от 29.08.2013 г. «О дополнительных мерах по ликвидации и недопущению распространения африканской чумы свиней и других опасных заболеваний животных». 3. EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare), 2014. Scientific Opinion on African swine fever. EFSA Journal 2014;12(4):3628, 77 pp. doi:10.2903/j.efsa.2014.3628. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

Статья передана в печать 21.04.2015 г.

УДК 611.4

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ В ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РАСПРОСТРАНЕННОМ ГНОЙНОМ ПЕРИТОНИТЕ

***Косинец В.А., **Федотов Д.Н.**

*Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, Россия
**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

В эксперименте на 40 кроликах-самцах породы шиншилла с помощью световой микроскопии изучены структурные изменения в щитовидной железе и надпочечниках при экспериментальном распространенном гнойном перитоните. Введение в брюшную полость аэробно-анаэробной культуры E. Coli и B. fragilis вызывает через 6-ть часов в паренхиме щитовидной и надпочечной желез выраженные структурные перестройки. Применение препарата «Омегавен», содержащего омега-3-жирные кислоты, препятствует развитию патологических структурных изменений и гиподисфункционального состояния щитовидной железы и надпочечников при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

In experiment on 40 rabbits-males of chinchilla breed using light microscopy structural changes of thyroid and adrenal glands were studied at an experimental widespread purulent peritonitis. Introduction into the abdominal cavity of aerobic-anaerobic culture of E. Coli and B. fragilis causes in 6 hours the expressed structural changes in parenchyma of thyroid and adrenal glands. Application of the preparation «Omegaven», containing omega-3-fatty acids, interferes with the development of pathological structural changes and hypofunctional condition of thyroid and adrenal glands at an experimental widespread purulent peritonitis.

Ключевые слова: морфология, хирургия, щитовидная железа, надпочечники, перитонит.
Keywords: morphology, surgery, thyroid, adrenals, peritonitis.

Введение. Щитовидная железа и надпочечники являются важным исполнительным периферическим звеном эндокринного аппарата организма. Посредством выделения гормонов они играют ведущую роль в адаптации организма к изменяющимся условиям среды и состояния организма [1,4]. Известно, что на любые стресс-факторы и антигены первыми в организме начинают реагировать надпочечники [2], однако, работ, посвященных изучению морфофункциональных особенностей структур коркового и мозгового веществ надпочечников, а также щитовидной железы при перитоните и его лечении в литературе, практически не имеется. Однако распространенный гнойный перитонит является одним из наиболее опасных осложнений острых хирургических заболеваний, поврежденных органов брюшной полости, а также оперативных вмешательств на них [3]. В связи с этим нами была поставлена **цель** – изучить структурные изменения щитовидной железы и надпочечников при экспериментальном распространенном гнойном перитоните и возможность их коррекции с помощью препарата «Омегавен», содержащего омега-3-жирные кислоты.

Материал и методы исследований. Эксперимент выполнен на 40 кроликах-самцах породы шиншилла, массой 2600-3000 г. Животные были разделены на следующие группы: I – интактные (n=5); II – 6-ти часовой распространенный гнойный перитонит без хирургического лечения (n=5); III – контрольная, хирургическое лечение перитонита (n=15); IV – хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде препарата «Омегавен» (n=15).

Перитонит моделировали путем интраабдоминального введения аэробно-анаэробной взвеси E.coli (штамм 0111 K58 НИ С 130-53) и V.Fragilis (штамм 323) из расчета 6 млрд. микробных тел на 1 кг массы кролика. Через 6 часов после введения микроорганизмов в III-ей и IV-ой группах животных с целью лечения перитонита и устранения энтеральной недостаточности выполняли лапаротомию, санацию брюшной полости, декомпрессию тонкой кишки. Животным IV группы в послеоперационном периоде (в течение 5-ти суток) ежедневно внутривенно капельно вводили препараты «Омегавен» (2 мл на 1 кг массы), животным III группы – эквивалентный объем 0,9% раствора натрия хлорида. Животных с распространенным гнойным перитонитом выводили из эксперимента (летальная доза нембутала) через 6 часов после заражения, III и IV групп – на 1-е, 3-и и 5-е сутки после операции.

Для морфологического исследования выполняли забор щитовидной железы и надпочечников. При отборе образцов стремились к оптимальной стандартизации всех методик, включающих фиксацию, проводку, заливку, приготовление блоков и срезов. Взятие проб осуществлялось не позднее 30 минут после убоя. Эндокринные железы брали целиком, фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Парафиновые срезы, толщиной 3-5 мкм, получали с помощью санного микротомы МС-2. Гистосрезы окрашивали гематоксилин-эозином. Более толстые срезы (толщиной 10-15 мкм) получали на замораживающем микротоме «Mісrotome» HM 525.

Абсолютные измерения структурных компонентов надпочечников и их фотографирование осуществляли при помощи светового микроскопа «Olympus BX-41» с использованием компьютерной программы «CellA».

На светооптическом уровне каждая цитологическая структура описывалась набором морфологических признаков.

Статистическую обработку данных проводили с использованием электронных пакетов анализа «STATISTICA 6.0» и «Excel».

Результаты исследований. Установлено, что у здоровых кроликов толщина капсулы щитовидной железы составляет $33,17 \pm 4,52$ мкм. Диаметр фолликулов колеблется от $18,19 \pm 2,02$ до $55,15 \pm 4,32$ мкм. Высота тироцитов равна $3,45 \pm 0,31$ мкм.

В результате развития 6-ти часового распространенного гнойного перитонита отмечалось статистически достоверное увеличение толщины капсулы до $51,17 \pm 1,43$ мкм ($p=0,023$), а также увеличение диаметра фолликулов и снижение высоты тироцитов до $2,22 \pm 1,03$ мкм.

На 1-е сутки послеоперационного периода, по сравнению с нормой, толщина капсулы щитовидной железы увеличилась не значительно, диаметр фолликулов варьировал от $19,27 \pm 2,33$ мкм до $58,26 \pm 2,89$ мкм. Высота тироцитов уменьшилась в 1,54 раза ($p_1=0,0007$). На 3-и и 5-е сутки наблюдалась такая же тенденция изменений морфометрических показателей. Данные морфометрические изменения были связаны с патологическими процессами, происходящими в щитовидной железе, растянутые коллоидом фолликулы, отсутствие резорбционных вакуолей, плоский тироидный эпителий с дистрофическими изменениями, что косвенно свидетельствует о гипофункциональном состоянии железы.

У животных, получавших препарат «Омегавен», с 1-ых суток послеоперационного периода, по сравнению с контрольной группой, наблюдалась положительная динамика. На 1-е сутки после операции показатели оставались практически стабильными. На 3-и сутки послеоперационного периода в основной группе, по сравнению с контрольной, диаметр фолликулов варьировал от $19,12 \pm 1,94$ мкм до $61,18 \pm 3,18$ мкм, а высота тироцитов составляла $3,11 \pm 0,64$ мкм. На 5-сутки после операции в основной группе морфометрические показатели структур щитовидной железы восстанавливались и приближались к нормативным. Фолликулы в железе преобладали малого диаметра ($18,21 \pm 1,88$ мкм), коллоид содержал резорбционные вакуоли, тироидный эпителий преимущественно был кубический, высотой $3,42 \pm 0,83$ мкм.

При исследовании надпочечников установлено, что у здоровых кроликов толщина коркового вещества составляет $89,32 \pm 4,75$ мкм. Пучковая зона коры доминирующая и ее толщина равна $48,43 \pm 2,50$ мкм, после по своим размерам следует клубочковая зона, наименьшая толщина у сетчатой зоны – $16,39 \pm 2,82$ мкм (таблица 2). Кора надпочечников кроликов имеет типичное гистологическое строение, при этом ярко выражена клубочковая зона. Мозговое вещество располагается в центре, имеет существенные видовые морфологические особенности, а именно, наличие медуллярных выростов, которые нередко внедряются в сетчатую или пучковую зону коры. Толщина медуллы у интактных животных составила $30,47 \pm 1,81$ мкм.

В результате развития 6-ти часового распространенного гнойного перитонита отмечалось статистически достоверное уменьшение толщины коркового вещества и его клубочковой зоны до $82,59 \pm 2,46$ мкм ($p=0,023$) и $20,16 \pm 0,83$ мкм ($p<0,0001$) соответственно.

Таблица 1 – Морфометрические показатели структур щитовидной железы при экспериментальном распространенном гнойном перитоните

Группы	Сутки после операции	Толщина капсулы, км	Диаметр фолликулов, мкм			Высота тироцитов, мкм
			крупный	средний	малый	
Норма (n=5)	-	33,17±4,52	55,15±4,32	33,54±2,25	18,19±2,02	3,45±0,31
6-ти часовой перитонит (n=5)	-	51,17±1,43 p1=0,023	67,42±3,13 p1<0,0001	42,22±4,91	21,13±3,14	2,22±1,03 p1=0,0001
Контрольная (n=15)	1-е сутки (n=5)	39,11±3,24 p2<0,0001	58,26±2,89 p1<0,0001 p2=0,0008	35,48±3,15 p1<0,0001 p2<0,0001	19,27±2,33 p1=0,0007 p2=0,0004	2,24±0,71 p1=0,0007
	3-и сутки (n=5)	43,24±2,15 p1=0,0011	68,03±4,07 p1<0,0001	43,13±2,32 p1=0,007	24,01±3,27 p1<0,0001	2,49±0,98 p1=0,008
	5-е сутки (n=5)	44,02±3,81 p1=0,0001	70,14±2,36 p1<0,0001	48,22±2,93 p1=0,0002	20,13±2,48	2,87±1,01 p1<0,0001
Основная (n=15)	1-е сутки (n=5)	33,21±2,47 p2<0,0001 p3<0,0001	57,33±2,99 p2<0,0001 p3<0,0001	38,15±2,04 p1=0,0042 p2<0,0001 p3<0,0001	18,76±2,34 p2=0,02 p3<0,0001	3,06±0,45 p1=0,033 p2=0,008 p3=0,012
	3-и сутки (n=5)	33,38±3,16 p2=0,0001 p3<0,0001	61,18±3,18 p1=0,0017 p3<0,0001	42,23±2,43 p1<0,0001 p3<0,0001	19,12±1,94 p3=0,0007	3,11±0,64 p1=0,014
	5-е сутки (n=5)	33,31±1,19 p1<0,0001 p3<0,0001	55,16±2,44 p1<0,0001 p3<0,0001	34,41±2,74 p1<0,0001 p3<0,0001	18,21±1,88 p1=0,042 p3<0,0001	3,42±0,83 p2<0,0001

Примечание: p1 – по сравнению с нормой; p2 – по сравнению с группой 6-ти часовой перитонит; p3 – по сравнению с группой без лечения аналогичных суток.

На 1-е сутки послеоперационного периода, по сравнению с нормой, толщина коры уменьшилась в 1,44 раза ($p<0,0001$), толщина ее клубочковой зоны – в 1,41 раза ($p<0,0001$), пучковой – в 1,36 раза ($p<0,0001$) и сетчатой – в 1,74 раза ($p=0,0007$). Данные морфометрические изменения были связаны с патологическими процессами, происходящими в коре надпочечника – лизисом и вакуолизацией клеток. Толщина мозгового вещества достоверных изменений не имела. На 3-и сутки после операции сохранялась тенденция к снижению толщины коры и ее зон. При этом толщина мозгового вещества достоверно увеличилась до 35,19±2,42 мкм ($p=0,008$). В клубочковой зоне коркового вещества наблюдался паранекроз и вакуолизация клеток, в пучковой зоне – мелкокапельная жировая дистрофия, в сетчатой зоне – атрофия клеток и зернистая дистрофия. В результате указанных изменений отмечалось замещение коры медуллой надпочечника, о чем свидетельствовала высокая митотическая активность клеток адриналиноцитов. На 5-е сутки послеоперационного периода морфометрические показатели структуры надпочечников, по-прежнему, статистически достоверно отличались от нормы. Толщина мозгового вещества составила 42,30±1,81 мкм ($p<0,0001$), коркового вещества – 71,28±3,28 ($p=0,0001$), клубочковой зоны – 19,82±1,06 ($p<0,0001$), пучковой – 38,22±2,63 ($p=0,0002$) и сетчатой – 13,25±1,48 мкм. Данные структурные перестройки свидетельствовали об острой надпочечниковой недостаточности коры.

Таблица 2 – Морфометрические показатели структур надпочечников при экспериментальном распространенном гнойном перитоните

Группы	Сутки после операции	Корковое вещество, мкм	Толщина зон коры, мкм			Мозговое вещество, мкм
			клубочковая	пучковая	сетчатая	
Норма (n=5)	-	89,32±4,75	24,50±0,60	48,43±2,50	16,39±2,82	30,47±1,81
6-ти часовой перитонит (n=5)	-	82,59±2,46 p1=0,023	20,16±0,83 p1<0,0001	47,14±0,98	15,35±2,09	30,23±1,43
Контрольная (n=15)	1-е сутки (n=5)	62,13±2,20 p1<0,0001 p2<0,0001	17,32±0,89 p1<0,0001 p2=0,0008	35,53±2,15 p1<0,0001 p2<0,0001	9,40±0,89 p1=0,0007 p2=0,0004	30,61±1,31
	3-и сутки (n=5)	77,51±2,40 p1=0,0011	18,20±1,25 p1<0,0001	43,66±1,66 p1=0,007	15,71±0,99	35,19±2,42 p1=0,008
	5-е сутки (n=5)	71,28±3,28 p1=0,0001	19,82±1,06 p1<0,0001	38,22±2,63 p1=0,0002	13,25±1,48	42,30±1,81 p1<0,0001
Основная (n=15)	1-е сутки (n=5)	98,93±3,28 p1=0,0059 p2<0,0001 p3<0,0001	24,95±0,61 p2<0,0001 p3<0,0001	55,40±3,04 p1=0,0042 p2<0,0001 p3<0,0001	18,61±1,46 p2=0,02 p3<0,0001	32,64±0,55 p1=0,033 p2=0,008 p3=0,012
	3-и сутки (n=5)	110,43±3,76 p1=0,0001 p3<0,0001	26,59±0,80 p1=0,0017 p3<0,0001	64,93±2,53 p1<0,0001 p3<0,0001	18,93±0,91 p3=0,0007	33,20±0,73 p1=0,014
	5-е сутки (n=5)	122,25±2,53 p1<0,0001 p3<0,0001	29,08±0,44 p1<0,0001 p3<0,0001	73,73±1,52 p1<0,0001 p3<0,0001	19,45±0,08 p1=0,042 p3<0,0001	34,77±0,43 p1=0,0001 p3<0,0001

Примечание: p1 – по сравнению с нормой; p2 – по сравнению с группой 6-ти часовой перитонит; p3 – по сравнению с группой без лечения аналогичных суток.

У животных, получавших препарат «Омегавен», с 1-ых суток послеоперационного периода, по сравнению с контрольной группой, наблюдалась положительная динамика. На 1-е сутки после операции толщина коры составила $98,93 \pm 3,28$ мкм ($p < 0,0001$), наблюдалась повышенная митотическая активность адренкортикоцитов, в особенности пучковой зоны, что указывало на тенденцию к сохранению клеточного соотношения надпочечниковой ткани. На 3-и сутки послеоперационного периода в основной группе, по сравнению с контрольной, толщина коры была больше в 1,42 раза ($p < 0,0001$), толщина ее клубочковой зоны – в 1,46 раза ($p < 0,0001$), пучковой – в 1,49 раза ($p < 0,0001$) и сетчатой – в 1,20 раза ($p = 0,0007$). На 5-сутки после операции в основной группе морфометрические показатели структуры надпочечников статистически достоверно превышали норму. Толщина мозгового вещества надпочечников составила $34,77 \pm 0,43$ мкм ($p = 0,0001$), коркового вещества – $122,25 \pm 2,53$ ($p < 0,0001$), клубочковой зоны – $29,08 \pm 0,44$ ($p < 0,0001$), пучковой – $73,73 \pm 1,52$ ($p < 0,0001$) и сетчатой – $19,45 \pm 0,08$ мкм ($p = 0,042$).

Применение препарата «Омегавен» способствовало поддержке онтогенетического роста структур в щитовидной железе и надпочечниках, что позволило избежать существенных изменений в данном органе у животных основной группы.

Заключение. Таким образом, при развитии распространенного гнойного перитонита со стороны эндокринной системы, а именно ее исполнительного периферического звена, наблюдаются существенные структурные перестройки, приводящие к патологическим процессам в фолликулах щитовидной железы, в корковом веществе – паранекрозу, вакуолизации и атрофии клеток, мелкокапельной жировой дистрофии и зернистой дистрофии. Снижение толщины коры приводит к снижению функциональной активности адренкортикоцитов и может являться причиной развития острой надпочечниковой недостаточности, а увеличение диаметра фолликулов и снижение высоты тироцитов – гиподисфункциональному состоянию щитовидной железы.

Применение препарата «Омегавен», содержащего омега-3-жирные кислоты, оказывает позитивное воздействие на состояние щитовидной железы и надпочечников при экспериментальном распространенном гнойном перитоните. Морфометрические параметры эндокринных желез животных, получавших в послеоперационном периоде данный препарат, свидетельствуют о его способности препятствовать развитию патологических структурных изменений и гиподисфункционального состояния желез.

Литература. 1. Косинец, В.А. Метаболическая коррекция структурных изменений в надпочечниках при экспериментальном распространенном гнойном перитоните / В.А. Косинец, Д.Н. Федотов // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2012. - Т. 75, № 6. - С. 44-47. 2. Косинец, В.А. Морфологические изменения в тимусе и надпочечниках у кроликов при распространенном гнойном перитоните / В.А. Косинец, Д.Н. Федотов // Актуальные вопросы теоретической и клинической медицины: Материалы XIV итоговой конференции студенческого научного общества и научно-медицинского общества молодых ученых и специалистов, г. Ханты-Мансийск, 18 мая 2012 года; ГОУ ВПО ХМАО-Югры «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия». – Ханты-Мансийск, 2012. – С. 200-202. 3. Саидмуратов, А.С. Энтеральная недостаточность и ее коррекция при перитоните: автореферат дис. ... кандидата медицинских наук : 14.00.37 / А.С. Саидмуратов. – Душанбе, 2009. – 21 с. 4. Федотов, Д.Н. Становление компонентов надпочечников у человека и животных (гистофизиологические фундаментальные и экспериментальные аспекты): монография / Д.Н. Федотов, В.А. Косинец. – Витебск : ВГМУ, 2012. – 130 с.

Статья передана в печать 27.05.2015 г.

УДК 619:616.5-002.828-085.37:636.2.053

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОЙ СХЕМЫ ПРИМЕНЕНИЯ БАЦИНИЛА ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ТЕЛЯТ ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ

Мурад Маалуф Бешара Тони, Алешкевич В.Н., Красочко П.А.

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

Результаты исследований показывают целесообразность применения ветеринарного препарата «Бацинил» при вакцинации телят против трихофитии, использование которого оказывает положительное биокорректирующее и иммунокорректирующее влияние на процессы обмена веществ и иммунный статус организма животных.

The results of the study demonstrate the feasibility of the veterinary probiotic drug "Baciniil" by vaccination of calves against trichophytosis that have a positive effect on the immune corrective and bio-corrective metabolism and also on the immune status organism of animals.

Ключевые слова: трихофития, телята, бацинил, обмен веществ, естественная резистентность, иммунитет.

Keywords: Trichophytosis, calves, Baciniil, metabolism, natural resistance, immunity.

Введение. Одним из путей активизации антиинфекционной защиты организма является активация системы врожденного иммунитета. Его функции неспецифичны и реализуются за счет: механической защиты (кожа, слизистые оболочки); фагоцитоза; разрушения инфицированных клеток (комплемент, естественные киллеры); секреции цитокинов (интерферон, интерлейкины); синтеза антибактериальных пептидов, хемокинов и т.д. Все клеточные и гуморальные факторы неспецифической резистентности участвуют как эффекторные механизмы в развитии приобретенного иммунитета. Для активации этой системы могут использоваться как

иммунотропные препараты микробного происхождения, содержащие лизаты микробных тел, так и частично очищенные клеточные элементы (липополисахариды, пептидогликаны) или биологически активные фрагменты, полученные путем направленного синтеза (мурамилдипептид, глюкозаминмурамилдипептид). В этой связи, согласно данным Воробейчикова Е.В. и др. [2], определенное внимание заслуживает применение комплексных пробиотических препаратов, содержащих микробные метаболиты. Эти вещества увеличивают активность нормальной микрофлоры кишечника и макрофагальной системы организма, что приводит к активации неспецифических факторов иммунитета [1, 3].

Цель исследований – изучение влияния ветеринарного препарата «Бацинил» на иммунный ответ организма телят при вакцинации их сухой живой вакциной против трихофитии крупного рогатого скота и подбор оптимальной схемы его использования.

Материалы и методы исследований. В опытах были задействованы 3 группы телят черно-пестрой породы в возрасте 20 дней, живой массой 25–40 килограммов, принадлежащих СФ «Клевцы» КУП «Облдорстрой» Лиозненского района Витебской области:

- Телятам 1-й группы (10 животных) в период вакцинаций против трихофитии и последующие два дня после них выпаивали бацинил в дозе 10 мл голову;

- Телятам 2-й группы (10 животных) за три дня до вакцинаций против трихофитии выпаивали бацинил в дозе 10 мл голову;

- Телятам 3-й группы (10 животных) вводилась только сухая живая вакцина против трихофитии крупного рогатого скота производства ОАО «БелВитунифарм».

Препарат ветеринарный «Бацинил» – жидкий бесклеточный препарат на основе продуктов метаболизма спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* БИМ В-454 Д, полученный путем глубинного культивирования бактерий и последующего отделения клеток и спор.

У телят брали кровь и фекалии перед иммунизацией, через 10 дней после 1-й вакцинации, на 30-й день после 2-й вакцинации и определяли гематологические и биохимические показатели с помощью анализаторов «МЕК-6450 К» и EURO Lyser в НИИ ПВМ и Б УО «ВГАВМ», а также бактерицидную (БАСК), лизоцимную (ЛАСК), фагоцитарную активность сыворотки крови, титры противотрихофитиных агглютининов, используя при этом общеизвестные методы определения упомянутых показателей.

Результаты исследований. Содержание белкового спектра и иммуноглобулинов в крови животных имеет большое диагностическое и прогностическое значение, которое отражает степень интенсивности протекания обменных процессов и уровень неспецифической резистентности организма.

Исследования показали (таблица 1), что в период исследований при вакцинации телят против трихофитии содержание общего белка достоверно увеличивалось у телят всех групп. При этом у животных, получавших бацинил, содержание общего белка было выше, чем в контрольной группе ($P \leq 0,05$). Так у телят первой опытной группы его фоновый уровень составлял $48,90 \pm 3,60$ г/л, на 10-е сутки от начала применения пробиотического препарата регистрировался на уровне $65,02 \pm 3,80$ г/л, на 30 сутки – $66,77 \pm 1,40$ г/л; второй группы соответственно – $41,9 \pm 8,60$ г/л, $61,91 \pm 2,10$ г/л, $62,82 \pm 0,90$ г/л. У животных, иммунизированных противотрихофитиной вакциной без использования пробиотика, содержание общего белка было соответственно – $44,10 \pm 5,00$ г/л; $58,13 \pm 3,60$ г/л; $60,38 \pm 2,70$ г/л.

Таблица 1 – Фракции сыворотки крови телят при электрофорезе на фоне активизации иммунной системы бацинилом

Группы	Время исследований	Общий белок	Альбумины	Альфа	Альфа 1	Альфа 2	Бета	Гамма
1	До введения препарата	48.90 ±3.60	48.80 ±5.60	19.58 ±1.40	5.18 ±0.30	11.10 ±0.20	15.23 ±0.70	18.00 ±0.90
	10 сутки	65.02 ±3.80	46.50 ±1.20	19.82 ±0.70	7.14 ±1.10	12.68 ±0.70	16.5 ±1.80	19.28 ±0.40
	30 сутки	66.77 ±1.4*** #	40.7 ±2.2	22.14 ±1.00	9.5 ±0.10***	12.64 ±0.70*	17.52 ±0.50** #	24.75 ±1.20*** #
2	До введения препарата	41.90 ±8.60	46.90 ±6.30	15.68 ±0.30	4.75 ±0.10	10.93 ±0.10	14.28 ±0.90	14.80 ±0.90
	10 сутки	61.91 ±2.10	43.8 ±7.50	18.7 ±1.30	5.26 ±0.40	13.44 ±0.50	15.15 ±0.50	18.04 ±1.20
	30 сутки	62.82 ±0.90*+	41.1 ±1.90	21.53 ±0.30***	9.05 ±0.40***	12.48 ±0.50**	16.36 ±0.80	21.55 ±1.70***
3	До введения препарата	44.10 ±5.00	47.10 ±2.90	15.34 ±0.50	4.65 ±0.10	10.69 ±0.40	13.11 ±0.80	16.00 ±0.70
	10 сутки	58.13 ±3.60	44.9 ±1.20	16.66 ±2.10	4.88 ±0.60	11.78 ±0.10	14.33 ±0.70	17.18 ±1.10
	30 сутки	60.38 ±2.70**	43.6 ±3.70	21.30 ±0.70***	8.90 ±0.30***	12.40 ±0.40**	15.44 ±0.80*	19.68 ±1.90

Примечание: – от начала эксперимента на 30 й день: * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$;

– к 30-му дню для 1-й и 2-й группы: + – $P \leq 0,05$; ++ – $P \leq 0,01$; +++ – $P \leq 0,001$;

– к 30-му дню для 1-й и 3-й группы: # – $P \leq 0,05$; ## – $P \leq 0,01$; ### – $P \leq 0,001$.

Анализируя содержание белковых фракций в сыворотке крови телят всех опытных групп, следует отметить, что содержание альбуминов по ходу экспериментов незначительно понижалось и регистрировалось у животных 1-й и 2-й групп на уровне: до начала исследований – $48,80 \pm 5,6$ и $46,9 \pm 6,30$ г/л; на 10-й день от

начала выпойки пробиотического препарата бацинил – $46,50 \pm 1,20$ и $43,80 \pm 7,50$ г/л; на 30-й день – $40,70 \pm 2,20$ и $41,10 \pm 1,90$ г/л, соответственно у животных контрольной группы – $47,10 \pm 2,90$ г/л; $44,90 \pm 1,20$ г/л; $43,60 \pm 3,70$ г/л.

Уровень α -глобулинов сыворотки крови телят также возрастал и находился в пределах соответственно $19,58 \pm 1,40$ г/л, $19,82 \pm 0,70$ г/л, $22,14 \pm 1,00$ г/л; $15,68 \pm 0,03$ г/л, $18,70 \pm 1,30$ г/л, $21,53 \pm 0,30$ г/л и $15,34 \pm 0,5$ г/л, $16,66 \pm 2,1$ г/л, $21,3 \pm 0,7$ г/л. При этом следует отметить, что увеличение фракции α_2 -глобулинов в отличие от фракции α_1 -глобулинов у всех животных всех групп было незначительным ($P > 0,05$) и было у телят 1-й группы на уровне $11,10 \pm 0,20$ г/л, $12,68 \pm 0,70$ г/л, $12,64 \pm 0,70$ г/л; 2-ой – $10,93 \pm 0,10$ г/л, $13,44 \pm 0,50$ г/л, $12,48 \pm 0,50$ г/л; 3-ей – $10,69 \pm 0,40$ г/л, $11,78 \pm 0,10$ г/л, $12,4 \pm 0,40$ г/л. В ходе исследований установлено и повышение β -глобулиновой и γ -глобулиновой фракций сывороточных белков ($P \leq 0,05$). В начале эксперимента их количество у телят 1-й опытной группы, регистрировалось на уровне $15,23 \pm 0,70$ г/л, $18,00 \pm 0,90$ г/л, 2-й – $14,28 \pm 0,90$ г/л, $14,8 \pm 0,90$ г/л, а контрольной группы – $13,11 \pm 0,80$ г/л, $16,0 \pm 0,70$ г/л, к 30-му дню – $17,52 \pm 0,50$ г/л, $24,75 \pm 1,20$ г/л; $16,36 \pm 0,80$ г/л $21,55 \pm 1,70$ г/л и $15,44 \pm 0,80$ г/л, $19,68 \pm 1,90$ г/л соответственно.

Следовательно, отмеченные изменения белкового спектра в крови телят свидетельствуют о положительном иммунокорригирующем влиянии бацинилла на иммунный статус организма животных. При этом более выраженные изменения отмечаются у животных, которым бацинил выпаивался в период их вакцинации против трихофитии. В результате изучения влияния бацинилла на показатели неспецифических факторов иммунитета (таблица 2), установлено, что до начала проведения эксперимента у телят 1-й, 2-й и 3-й групп содержание лейкоцитов, эритроцитов, гематокрита и гемоглобина было соответственно $9,05 \pm 0,43$, $9,05 \pm 1,60$, $7,87 \pm 0,56$ 10^9 /л; $4,12 \pm 0,24$, $4,22 \pm 0,90$, $4,83 \pm 0,12$ 10^{12} /л; $27,90 \pm 1,20$, $27,90 \pm 4,90$, $18,50 \pm 2,30$ %; $75,20 \pm 3,20$, $85,20 \pm 7,30$, $73,20 \pm 5,40$ г/л. При применении бацинилла у телят 1-й опытной группы повышалось содержание абсолютного числа лейкоцитов до $13,40 \pm 1,28$ 10^9 /л ($P \leq 0,05$); гемоглобина до $95,60 \pm 5,80$ г/л ($P > 0,05$); эритроцитов до $10,05 \pm 3,35$ 10^{12} /л ($P > 0,05$), по сравнению с животными контрольной группы соответственно $10,88 \pm 0,11$ 10^9 /л; $91,80 \pm 3,00$ г/л; $9,66 \pm 1,59$ 10^{12} /л и незначительно выше, чем у телят 2-й опытной группы, у которых эти показатели регистрировались соответственно на уровне $12,40 \pm 1,30$ 10^9 /л, $94,60 \pm 5,80$ г/л, $9,55 \pm 3,40$ 10^{12} /л ($P > 0,05$).

Следует отметить, что количество нейтрофилов в крови телят контрольной группы было выше, чем в крови опытных телят, но не достоверно выше верхней физиологического колебания ($P > 0,05$). В опытных группах при снижении количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов отмечено увеличение содержания лимфоцитов на $7,40$ – $8,10$ % и моноцитов на $31,80$ – $46,60$ %, что свидетельствует о повышении резистентности организма. Применение пробиотика бацинилла оказало позитивное влияние на уровень Т- и В-лимфоцитов. Их количество соответственно у телят 1-й группы регистрировалось перед иммунизацией на уровне $41,50 \pm 0,92$ % и $10,50 \pm 0,52$ %, 2-й – $35,80 \pm 0,62$ % и $8,40 \pm 0,81$ %. В дальнейшем было обнаружено стабильное повышение данных показателей и через 10 дней после первой иммунизации они составляли – $42,70 \pm 1,13$ %, $14,90 \pm 0,81$ % и $39,02 \pm 0,56$ %, $11,20 \pm 0,64$ %, на 30-е день после 2-й иммунизации – $44,40 \pm 0,71$ % ($P \leq 0,05$), $16,50 \pm 1,17$ % ($P \leq 0,001$) и $40,60 \pm 1,33$ %, $11,40 \pm 0,55$ % соответственно.

Таблица 2 – Гематологические показатели крови телят на фоне активизации иммунной системы бацинилом

Группы	Время исследований	Гемоглобин, г/л	Эритроциты ($\cdot 10^{12}$ /л)	Лейкоциты ($\cdot 10^9$ /л)	Лимфоциты ($\cdot 10^9$ /л)	Т-лимфоциты, %	В-лимфоциты, %	Гематокрит, %	Тромбоциты, 10^3 /мкл
1	До введения препарата	$75,20 \pm 3,20$	$4,12 \pm 0,24$	$9,05 \pm 0,43$	$5,96 \pm 0,04$	$41,50 \pm 0,92$	$0,50 \pm 0,52$	$27,90 \pm 1,20$	$630,80 \pm 58,50$
	10 сутки	$88,10 \pm 3,43$	$8,74 \pm 2,20$	$10,84 \pm 3,70$	$6,41 \pm 0,03$	$42,70 \pm 1,13$	$14,90 \pm 0,81$	$29,53 \pm 0,73$	$747,00 \pm 50,85$
	30 сутки	$95,60 \pm 5,80^{**}$	$10,05 \pm 3,35$	$13,40 \pm 1,28^{**}$ #	$6,44 \pm 0,04$ *** ###	$44,40 \pm 0,71^*$ #	$16,50 \pm 1,17^{***}$ ###	$32,62 \pm 0,70$ ***	$787,40 \pm 43,34^*$
2	До введения препарата	$85,20 \pm 7,30$	$4,22 \pm 0,90$	$9,05 \pm 1,60$	$4,48 \pm 0,80$	$40,70 \pm 0,40$	$0,50 \pm 0,52$	$27,9 \pm 4,90$	$679,80 \pm 52,80$
	10 сутки	$90,60 \pm 4,90$	$7,74 \pm 2,40$	$9,86 \pm 2,30$	$5,76 \pm 2,50$	$41,90 \pm 2,03$	$13,80 \pm 0,60$	$28,77 \pm 2,50$	$726,20 \pm 50,90$
	30 сутки	$94,60 \pm 5,80$	$9,55 \pm 3,40$	$12,40 \pm 1,30$	$5,56 \pm 1,10$	$43,40 \pm 0,60$ ***	$15,50 \pm 2,30^{***}$	$31,96 \pm 1,90$	$771,20 \pm 47,80$
3	До введения препарата	$73,20 \pm 5,40$	$4,83 \pm 0,12$	$7,87 \pm 0,56$	$6,07 \pm 0,04$	$35,8 \pm 0,62$	$8,40 \pm 0,81$	$18,50 \pm 2,30$	$673,60 \pm 64,59$
	10 сутки	$83,20 \pm 4,93$	$8,16 \pm 0,44$	$10,26 \pm 2,50$	$6,17 \pm 0,03$	$39,20 \pm 0,56$	$11,20 \pm 0,64$	$22,73 \pm 1,86$	$728,20 \pm 48,19$
	30 сутки	$91,80 \pm 3,00^{**}$	$9,66 \pm 1,59^{**}$	$10,88 \pm 0,11^{***}$	$6,23 \pm 0,04^{**}$	$40,60 \pm 1,33^{**}$	$11,40 \pm 0,55^{**}$	$30,54 \pm 0,85^{***}$	$766,50 \pm 41,42$

Примечание: – от начала эксперимента на 30-й день: * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$; – к 30-му дню 1-й и 2-й группы: + – $P \leq 0,05$; ++ – $P \leq 0,01$; +++ – $P \leq 0,001$; – к 30-му дню 1-й и 3-й группы: # – $P \leq 0,05$; ## – $P \leq 0,01$; ### – $P \leq 0,001$.

Аналогичные изменения происходили в организме подопытных животных и по другим показателям естественной резистентности. Отмечено увеличение в крови телят, получавших бацинил, фагоцитарной

активности лейкоцитов крови на 6,80–8,60 % (таблица 3), при этом фагоцитарный индекс у телят 1-й опытной группы на 30 сутки после 2-й иммунизации был $2,58 \pm 0,13$, 2-й – $2,40 \pm 0,12$, контрольной – $2,12 \pm 0,12$; ЛАСК на 3,20–3,85 % и БАСК на 23–24,50 % по сравнению с животными, не получавшими его ($P \leq 0,01-0,001$).

Таблица 3 – Показатели естественной резистентности крови телят на фоне активизации иммунной системы бацинилом

Показатель	Время исследования	Группа животных		
		1	2	3
БАСК, %	До введения препарата	59,20±3,20	64,20±3,20	58,20±3,80
	10 сутки после 1-й иммунизации	84,30±3,20	77,40±3,26	61,30±2,50
	30 сутки после 2-й иммунизации	84,80±1,80***###	78,80±4,16***	60,30±1,40
ЛАСК, %	До введения препарата	16,62±0,40	16,45 ±0,40	16,62±0,20
	10 сутки после 1-й иммунизации	20,10±0,80	17,20±0,83	16,90±0,20
	30 сутки после 2-й иммунизации	21,45±0,80**##	19,50±1,20*	17,60±1,20
ФА, %	До введения препарата	66,20±2,60	68,70±3,26	62,60±1,20
	10 сутки после 1-й иммунизации	73,80±2,30	72,60±3,16	65,20±2,10
	30 сутки после 2-й иммунизации	71,30±1,10 ###	70,40±4,20	64,50±1,20
ФИ	До введения препарата	2,04±0,09	2,14±0,10	2,11±0,05
	10 сутки после 1-й иммунизации	2,16±0,12	2,10±0,20	2,03±0,23
	30 сутки после 2-й иммунизации	2,58±0,13***##	2,40±0,12	2,12±0,12

Примечание: – от начала эксперимента на 30 й день: * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$;
– к 30-му дню 1-й и 2-й группы: + – $P \leq 0,05$; ++ – $P \leq 0,01$; +++ – $P \leq 0,001$;
– к 30-му дню 1-й и 3-й группы: # – $P \leq 0,05$; ## – $P \leq 0,01$; ### – $P \leq 0,001$.

Таблица 4 – Биохимические показатели сыворотки крови телят на фоне активизации иммунной системы бацинилом

Группы	Время исследований	Глюкоза, мкмоль/л	Триглицериды, мкмоль/л	Цинк, мкмоль/л	Медь, мкмоль/л
1	До введения препарата	2,63±0,18	0,27±0,12	11,98±4,73	47,62±7,33
	10 сутки	3,61±0,52	0,33±0,12	14,05±1,32	50,82±11,23
	30 сутки	4,66±0,38***	0,11±0,04	17,9±2,71	56,09±9,35
2	До введения препарата	2,56±0,30	0,4±0,20	9,2±3,70	24,7±0,50
	10 сутки	3,38±0,40	0,63±0,20	13,15±0,40	36,1±10,30
	30 сутки	4,34±0,70*	0,14±0,10	16,6±2,90	49,9±6,50***
3	До введения препарата	2,77±0,24	0,54±0,13	9,85±1,33	25,70±5,27
	10 сутки	3,48±0,40	0,42±0,14	12,48±2,17	30,08±8,85
	30 сутки	3,84±0,40*	0,19±0,06*	15,40±2,46*	47,39±9,97

Примечание: – от начала эксперимента на 30 й день: * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$.

На фоне применения бацинила содержание глюкозы в крови телят 1-й и 2-й групп от начала постановки опыта достоверно повысилось к 30-му дню после 2-й вакцинации на $1,78-2,03$ мкмоль/л ($P \leq 0,01$). У животных контрольной группы ее содержание в крови также увеличивалось, и в дальнейшем эти данные не имели существенных различий по сравнению с показателями животных опытных групп ($P > 0,05$) (таблица 4).

В сыворотке крови телят всех групп регистрируется повышение количества цинка и меди с $9,20-11,98$ мкмоль/л и $25,70-47,62$ мкмоль/л до $15,40 \pm 2,46-17,9 \pm 2,71$ мкмоль/л и $47,39 \pm 9,97-56,09 \pm 9,35$ мкмоль/л соответственно. При этом их содержание было несколько выше у животных первой группы ($P > 0,05$).

Количество триглицеридов у всех телят, наоборот, уменьшилось и составляло на начало опыта $0,27 \pm 0,12-0,54 \pm 0,13$ мкмоль/л, а к 30-му дню после 2-ой вакцинации $-0,11 \pm 0,04-0,19 \pm 0,06$ мкмоль/л.

Установлено, что выпаивание бацинила при вакцинации телят против трихофитии стимулировало продукцию специфических антител плазматическими клетками, так, максимальных титр противотрихофитийных антител в сыворотке крови телят контрольной группы составил $7,30 \log_2$, а в 1-й опытной – $8,30 \log_2$, 2-й – $7,78 \log_2$. До иммунизации у всех телят противотрихофитийных агглютининов не обнаружено.

Закключение. Применение пробиотического препарата «Бацинил» при вакцинации телят против трихофитии оказывает положительное биокорректирующее и иммунокорректирующее влияние на процессы обмена веществ и иммунный статус организма животных. Оптимальной схемой его применения является его выпаивание в день 1-й и 2-й вакцинаций животных и последующие два дня после них по 10 мл.

Литература. 1. Бондаренко, В.М. Препараты пробиотики, пребиотики и синбиотики в терапии и профилактике кишечных дисбактериозов / В.М. Бондаренко, Н.М. Грачева // Фарматека. – 2003. - №7. – С. 56-63. 2. Воробейчиков, Е.В. Иммунотропные эффекты пробиотического комплекса Бактистатин на фоне применения антибиотиков / Е.В. Воробейчиков, А.В. Степанов, М.Ю. Волков, А.Ж. Василенко, В.М. Пономаренко, А.В. Сеница // Антибиотики и химиотерапия. – 2008. - №3. – Ч. 1-2. С 3-9. 3. Габриэлян, Н.И. Изучение влияния пробиотика споробактерина на функциональное состояние гранулоцитарно-макрофагальных клеток крови *in vitro* / Н.И. Габриэлян, В.С. Сускова, С.И. Сусков, Н.Л. Вологодская // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – М., 2012. – Том 153. - №5. – С. 653-655.

Статья передана в печать 05.04.2015 г.

ЛЕЧЕНИЕ ЯГНЯТ ПРИ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Мурзалиев И. Дж.

УО «Витебская ордена «Знака Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

При лечении ягнят препаратом «Амоксициллин 15% LA» при инфекционной патологии органов дыхания смешанной этиологии, эффективность составляет до 100,0 % и повышает сохранность овцепоголовья более чем на 95,0%.

The treatments lambs preparation Amocsisillin15% LA the intectionspatogeneticorgans respirations mixed aetiology amelioration effective the 100,0% hang safety sheeplive the more use 95,0 prosents.

Ключевые слова: ягнята, лечение, пастереллез, диплококковая септицемия, парагрипп – 3, хламидиоз, риккетсиоз, «Амоксициллин 15% LA» и «Бициллин 5».

Keywords: lambs, treatment, pasterellae, diplococcuslancoelatus, parahripp-3, chlamidispsittaci, riccetsios, Amocsisillin 15% IA, bisillin 5.

Введение. В Республике Беларусь поголовье овец до 1990 г. Составляло около 2,5 миллионов голов. В основном разводились романовская, прекос и латвийская темноголовая породы овец. По продуктивности они районировались следующим образом: в Минской, Гомельской, Брестской областях - тонкорунная порода овец - прекос; в Гродненской, Витебской областях - латвийская темноголовая полутонкорунная порода овец, в Могилевской и Витебской областях - романовская грубошерстная порода овец [4].

В настоящее время согласно Государственной программе «О развитии овцеводства» на 2013-2015 годы, утвержденной постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 20.03.2013 № 202, перед работниками агропромышленного комплекса поставлена задача разведения поголовья овец в республике до 150, 0 тысяч голов и удовлетворения внутренней потребности текстильной промышленности овечьей шерстью,кожсырьем и пополнить внутренний рынок продукцией овцеводства: бараниной, сыром и жиром [1,4].

Среди болезней овец чаще выявляются болезни органов дыхания, которые наносят большой экономической ущерб овцеводческим хозяйствам Республики Беларусь.

Среди патологий сельскохозяйственных животных наибольший удельный вес занимают инфекционные болезни молодняка с поражением дыхательной системы и желудочно-кишечного тракта. Анализ ветеринарной статистики и литературных данных свидетельствует о том, что болезни органов дыхания, в структуре заболеваемости молодняка, занимают основное место, а затем - болезни желудочно-кишечного тракта [2,6].

В связи с широким распространением инфекционных болезней органов дыхания возникает необходимость поиска более эффективных и доступных средств профилактики и лечения, применяемых в условиях традиционной технологии содержания, выращивания и кормления овцепоголовья.

Поэтому разработка лечебно-профилактических и ветеринарно-санитарных мероприятий против инфекционных болезней животных является актуальной проблемой ветеринарной медицины Республики Беларусь [1,3,4].

Целью данной работы явилось сравнительное изучение эффективности препаратов «Амоксициллин 15% LA», «Бициллин 5» и совершенствование применения ягнятам при инфекционных патологиях органов дыхания, а также их влияние на резистентность организма животных.

Материал и методы исследований. Экспериментальные исследования проводились в клинике кафедры эпизоотологии инфекционных болезней животных в лаборатории научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии (НИИ ПВМ и Б), а производственные опыты - в фермерском хозяйстве «Азимов-Агро» Лоевского района Гомельской области. Исследования проводили на овцах и ягнятах романовской и латвийской темноголовой породах овец.

Источниками исследований по испытанию данных препаратов являлись; статистические данные падежа овец в фермерских хозяйствах, данные ветеринарной лаборатории по выявлению инфекционных пневмоэнтеритов у овец и ягнят, материалы лаборатории метеорологии по республике, отчеты по инфекционным болезням животных ветеринарной службой Лоевского района Гомельской области. В эксперименте по испытанию препаратов применяли антибиотик широкого спектра действия «Амоксициллин 15% LA», а в качестве базового препарата - «Бициллин 5». Для испытания лекарственных средств на безвредность и на стерильность в опыте были также использованы 25 линейных мышей. Изучение эффективности препаратов провели на трех овцах с патологией органов дыхания на 54 ягнятах фермерского хозяйства «Азимов-Агро» Лоевского района Гомельской области. Для гематологических исследований брали кровь у ягнят в возрасте 2-3 х месяцев, утром в одно и то же время в объеме 5 мл.из яремной вены. Из антикоагулянтов использовали гепарин в концентрации 20 ЕД/мл. Лимфоциты крови выделяли в градиенте плотности фикола-верографина, состоящего из 12 частей фикола (9% р-р) и 5 частей верографина (39% раствор). Плотность смеси доводили до 1,078 г/мл с помощью физраствора. Содержание розеткообразующих клеток (РОК) определяли по M.Jondal(1980) с учетом рекомендации Р.В. Петрова (1976). РОК фиксировали 2,5% раствором глутарового альдегида. Препараты-опечатки фиксировали метанолом и окрашивали по Романовскому-Гимза, подсчитывали 200 ядер, содержащих лимфоцитов (РОЛ), присоединивших 3 эритроцита барана.

В исследованиях применялись также клинические, эпизоотологические, бактериологические, патоморфологические и серологические методы.

Для опыта подбирали больных ягнят с легочными инфекциями и одинаковыми клиническими признаками, в контрольной группе были клинически здоровые ягнята.

Для испытания эффективности препаратов «Амоксициллина 15% LA» и «Бициллин 5» были созданы 4 группы ягнят в возрасте 2-3 х месяцев.

I группа. Ягнята в начальной стадии болезни. Всего 12 ягнят: из них в первой подгруппе – 6 ягням, которым вводили внутримышечно препарат «Амоксициллин 15% LA» два раза с интервалом 48 часов из расчета 5 мл на 10 кг живого веса. Ягням второй подгруппы-6 вводили «Бициллин 5» внутримышечно в дозе по 1200 000 ЕД+30 000 ЕД один раз в 4 недели.

II группа. Ягнята с острым течением заболевания. Всего 12 ягнят: из них 6 ягням первой подгруппы вводили внутримышечно «Амоксициллин 15% LA» три раза с интервалом 48 часов из расчета 5мл.на 10 кг живого веса. Остальным 6 ягням второй подгруппы вводили внутримышечно «Бициллин 5» по аналогичной схеме и дозе.

III группа. Ягнята с хроническим течением заболевания. Всего 20 ягнят: из них 10 ягням первой подгруппы вводили внутримышечно «Амоксициллин 15% LA» четыре раза с интервалом 48 часов из расчета 5мл.на 10 кг живого веса. Остальным 10 ягням второй подгруппы вводили препарат «Бициллин 5» по аналогичной схеме и дозе.

IV группа -контрольная. Всего 10 здоровых ягнят.

Клинические наблюдения проводили с ежедневным измерением температуры тела, пульса, дыхания на 1,2,3,4,5,6,7,10,12,15,21,25,30 сутки. При исследовании патматериала от подопытных ягнят на инфекционные болезни бактериальной этиологии методами посева на МПА и МПБ, были обнаружены биполярно окрашенные овоидные палочки. Лучший рост микробов получили на средах Хоттингера и Мартена с добавлением 10% сыворотки крови ягнят. Сыворотки готовили взятием крови у подопытных ягнят путем центрифугирования с последующим осаждением в термостате при температуре 37° С. Из материалов готовили мазки и окрашивали их по Романовскому–Гимза или метиленовой синью. В последующем ставили биопробу на лабораторных животных для окончательного диагноза. По итогам исследований нами установлена *Pasteurella haemolytica*, в единичных случаях *Pasteurella multocida* и диплококковая септицемия. При исследовании титров антител на респираторные вирусные инфекции, такие как: ПГ-3, АДВ, РСИ, титры антител составляли на ПГ-3 1:4, на АДВ 1:2, на РСИ титры антител отсутствовали. Исключение хламидиоза овец проводили серологическими реакциями РСК, РДСК и микроскопическим методом подготовки мазков–отпечатков, приготовленных из пораженных тканей внутренних органов. Терапевтический эффект изучаемых препаратов оценивали по сохранности поголовья животных для улучшения общего состояния организма животных, увеличению прироста живой массы, по нормализации гематологических показателей и по результатам патоморфологического вскрытия трупов животных.

Об эффективности применяемых препаратов и лекарственных средств судили по заболеваемости и летальности животных, подвергнутых лечению против инфекционных болезней органов дыхания ягнят. В лечении также использовали поливитамины. Одновременно отработывали разные методы введения, дозы препаратов и сроки, учитывая возраст животных. С целью улучшения сохранности овцеголовья был разработан план технологических, лечебно-профилактических, ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мер борьбы с массовыми смешанными респираторными и желудочно-кишечными инфекциями овец и ягнят. По итогам экспериментов и исследовательских работ подсчитывали экономический ущерб и экономический эффект.

Результаты исследований. В период с января по май 2015 года проводилось изучение: эпизоотологической обстановки фермерского хозяйства по инфекционным болезням овец, диагностическое исследование сывороток крови ягнят, а также изучалась лечебная эффективность препаратов «Амоксициллин 15% LA» и «Бициллин 5» при инфекционных болезнях органов дыхания овец.

За период исследования было осмотрено все (410) овцеголовье фермерского хозяйства. Проведено серологическое исследование 30 проб сывороток крови ягнят, а также бактериологическое, патоморфологическое исследование 12 проб кусочков патологических материалов из внутренних органов легких, печени, кишечника, селезенки, почек и лимфатических узлов. В результате, по данным лабораторных исследований у ягнят выявлены пастерелла мультацида, пастерелла гемолитика и возбудитель диплококковой септицемии ягнят. При изучении организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мероприятий установлено нарушение технологии содержания, кормления и выращивания овец и ягнят.

Все ягнята находились под постоянным клиническим наблюдением.

Одновременно всем животным улучшили условия содержания и усилили рацион кормления. В результате сохранность ягнят первой подгруппы составила 100,0 процентов. Среди ягнят второй подгруппы пал один ягненок с диагнозом «катаральная бронхопневмония», в результате сохранность ягнят составила 90,0 процентов.

Клинические признаки респираторных инфекций у ягнят третьей группы второй подгруппы начали проявляться более выражено на 4-й день. Патоморфологическое исследование органов от ягненка проводили на 30-й день. У ягненка наблюдались выраженные признаки катарально-гнойной пневмонии с поражениями верхушечных и средних долей легких, с кровоизлияниями под плеврой и эпикардом. Лимфатические узлы увеличены, бронхи воспалены. Пораженные доли легких были плотной консистенции, выявлялись участки красного, серого и розового цвета. Рисунок дольчатого строения был выражен, кусочки пораженных долей тонули в воде. На легких и костальной плевре выявлялись пленки серо-желтого цвета.

За период проведения опыта в контрольной группе пало 2 ягненка с диагнозом «катарально гнойная пневмония». В данной группе сохранность ягнят составила 80,0 процентов. Клиническая картина у ягнят начала проявляться на 4-5 день и характеризовалась повышением температуры тела до 41,6±0,5С, дыхание было учащенное (у всех ягнят), затрудненное, появились слизисто-гнойные выделения из носа, вокруг

ноздрей образовались серовато-желтые корочки засохшего экссудата. На 5–7 день у ягнят начала отмечаться анорексия, опущение головы вниз, глазные яблоки запавающие, 2 ягненка были угнетены и находились в лежачем положении, которые пали на 30-й день. При патоморфологическом вскрытии трупов павших ягнят, нами выявлено воспаление легких в виде катарально-гнойной бронхопневмонии, почти во всех передних долях легкихобнаружены участки уплотнений красного цвета (острая катаральная пневмония) величиной 1 x 1,5 см, 0,5 x 1,5 см, 1 x 1,5 см. В верхушечных и средних долях легких выявляли признаки катарально-гнойной пневмонии с участками поражения размером 0,3 x 0,5 см, 0,6 x 1,6 см, 1 x 4,6 см, и в нижних долях легких 1 x 3 см, 1,5 x 1,5 см, 1,5 x 2,2 см. Средостенные и бронхиальные лимфатические узлы были увеличены, упругой консистенции, серого цвета, слизистые оболочки трахеи и бронхов гиперемированы, на разрезе, местами выявлялись покрасневшие узелки брыжеечных лимфоузлов и слизисто-гнойный экссудат, иногда с примесью крови. Слизистая оболочка желудка и тонкого кишечника гиперемирована, с точечными кровоизлияниями, селезенка уменьшена, капсула сморщена, края острые, серого цвета. Из 54 ягнят 43 выздоровевших ягненка перевели в основную группу, а 8 больных ягнят оставили для дальнейшего лечения.

В результате изучения лечебной эффективности препаратов «Амоксициллин 15% LA» и «Бициллин 5» в первой и второй группах сохранность ягнят составила 100,0 процентов, в третьей группе первой подгруппы - 100,0 процентов, во второй подгруппе соответственно - 90,0 процентов, и в контрольной группе - 80,0 процентов.

Заключение. Препарат «Амоксициллин 15% LA» обладает 100,0 процентной лечебной эффективностью при пастереллезе и диплококковой септицемии ягнят, также оказывает бактерицидное действие одновременно на 6 видов грамположительных, 13 видов грамотрицательных аэробов и на 11 видов анаэробов.

Литература. 1. Архангельский, И. И. *Некоторые вопросы профилактики инфекционных заболеваний сельхоз животных* / И. И. Архангельский // *Сельское хозяйство Узбекистана*. – 1954. – № 2. – С. 73–76. 2. Прудников, В. С. *Морфология клеток, участвующих в иммунном ответе* / В. С. Прудников // *Иммнокоррекция в клинической ветеринарной медицине* / П. А. Красочко [и др.]; ред. П. А. Красочко. – Минск : Техноперспектива, 2008. – С. 32–43. 3. *Эпизоотология и инфекционные болезни: учебник для студентов и магистрантов учреждений высшего образования по специальности «Ветеринарная медицина»* / В. В. Максимович [и др.]; ред. В. В. Максимович. – Минск: ИВЦ Минфина, 2012. – 776 с. 4. Мурзалиев, И. Дж., Мураталиев Б. М. *Методическая рекомендации по М 91 профилактике массовых заболеваний органов дыхания овец* / И. Дж. Мурзалиев. – Бишкек: ОсОО «ДЭМИ», 2014. – 20с. 5. *Перспективы ветеринарно-санитарных и профилактических мероприятий в борьбе с респираторными заболеваниями овец* / М. Н. Соколов [и др.] // *Актуальные проблемы эпизоотологии*. – Казань, 1983. – С. 136–137. 6. Рахмедов, Б. Ч., Соколов М.Н. *Динамика антител и уровень иммуноглобулинов в сыворотке крови и носовых секретах ягнят при экспериментальной аденовирусной и паразитарной инфекциях* / Б. Ч. Рахмедов, М. Н. Соколов // *Труды ВИЭВ*. – М., 1987. – Вып. 64. – С. 50–53. 7. Сапарбаев, К. *Использование сывороток крови реконвалесцентов при респираторных заболеваниях ягнят в овцеводческих хозяйствах Казахской ССР* / К. Сапарбаев, М. Н. Соколов // *Бюллетень ВИЭВ*. – М., 1980. – Вып. 62. – С. 36–37. 8. Gray, E. W. *Ultrastructure of the small intestine virus – infected lambs* / E. W. Gray, K. W. Angus, D. R. Shodgrass // *Journal General Virology*. – 1980. – Vol. 49, № 1. – P. 71–82. 9. Novak, S. *Virus parainfluenza-3 a bovine adenovirus yakopatogenne agents priochoreniteliat* / S. Novak // *Veterinarstvi*. – 1982. – Vol. 32, № 2. – P. 75–76. 10. Palvi, V. *Adenovirus vaccination of pregnant ewes and studies on the colostral immunity of their lambs* / V. Palvi, S. Belak // *Veter. Microbial*. – 1980. – Vol. 5, Issue 1. – P. 73–74. 11. Sharma, R. *Immune responses of lambs experimentally infected with bovine respiratory syncytial virus and Pasteurella haemolytica* / R. Sharma, Z. Woldehiwet // *J. of comparative pathology*. – 1991. – Vol. 105, № 2. – P. 157–166. 12. Lehmkuhl, H. D. *Characterization of two serotypes of adenovirus isolated from sheep in the central United States* / H. D. Lehmkuhl, R. C. Cutlip // *Am. J. of Veter. Res.* – 1984. – Vol. 45, № 3. – P. 562–566. 13. Davies D.H. *Isolation of parainfluenza virus type 3 from pneumonic lambs* // *Nov. Zel. Vet. Your.* – 1980. – Vol. 28. – N7. – P. 147–148.

Статья передана в печать 25.03.2015 г.

УДК 619: 639.2.09; 639.3.09

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «АВЕССТИМ™» ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ АЭРОМОНОЗА КАРПОВ

Петров Р.В.

Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

В данной статье представлены результаты исследований, в ходе которых описывается применение препарата «Авесстим™» для лечения и профилактики аэромоноза карпов. Препарат «Авесстим™» - химическое соединение из класса триазола обеспечивает комплексное воздействие на организм путем антиоксидантного действия, иммуномодуляции, нормализации обмена веществ. Также данный препарат обладает противовоспалительным эффектом, кроме того, применяется как средство профилактики инфекционных болезней. Применение данного препарата позволило обеспечить 100% сохранность рыб в опытных группах, которые подвергались заражению возбудителем аэромоноза.

This article presents the results of studies in which describes the use of the drug "Avesstim™" for treatment and prevention aeromonosis carp. Preparation «Avesstim™» - concatenate chemical class of triazole provides complex effects on the body by the antioxidant effect, immunomodulation, normalize metabolism. Also, this agent has anti-inflammatory effect, moreover, used as a means of preventing infectious diseases. The use of this drug helped ensure 100% safety of fish in the experimental groups, which were challenged pathogen Aeromonas infection.

Ключевые слова: «Авесстим™», рыба, аэромоноз, микрофлора, карп, профилактика, иммунитет.
Keywords: «Avesstim™», fish, Aeromonas, microflora, carp, prevention, immunity.

Введение. На сегодняшний день рыбоводство - это одна из наиболее интенсивно развивающихся отраслей агропромышленного комплекса. На пути развития рыбоводства стоят заболевания, которые приводят к уменьшению продуктивности рыбы, повышенным потерям рыбопосадочного материала, снижению качества получаемой продукции. Одним из самых распространённых заболеваний прудовой рыбы является аэромоноз карпов. Аэромоноз карпов (краснуха карпов, геморрагическая септицемия, инфекционная брюшная водянка, люблинская болезнь) характеризуется воспалением кожного покрова, очагами кровоизлияний, водянкой, ерошением чешуи, пучеглазием, гидратацией мышечной ткани и всех внутренних органов [4].

В 50-х годах прошлого века в литературе появились сообщения о возможной опасности аэромонад для людей. В частности, было установлено наличие у аэромонад широкого спектра ферментов патогенности (гистамина, триптамина и др.). В дальнейшем аэромонады выделяли от людей, больных различными заболеваниями, сопровождающимися дисфункцией кишечника и массовым обсеменением стула. В настоящее время роль аэромонад, как фактора в возникновении заболеваний человека, в значительной степени выяснена [9, 14].

Патогенными для людей является штаммы, продуцирующие термолабильный энтеротоксин. Он устойчив в кислой и щелочной средах - pH от 4,5 до 10,0, однако теряет свою активность при нагревании до 60°C в течение 20 минут. В патогенезе заболеваний играет роль и эндотоксин. Микроб хорошо сохраняется при низких температурах. Для аэромонадной инфекции характерна сезонность заболевания, причем подъем приходится на теплый период года [8].

Поражения желудочно-кишечного тракта, вызванные аэромонадами, протекают чаще всего легко (небольшое повышение температуры, боли в животе, рвота). Реже заболевание принимает холероподобную форму с развитием токсикоза и дегидратации [6].

Аэромонады были признаны в качестве потенциальных пищевых патогенов более 20 лет. Аэромонад повсеместно определяли в пресной воде, в рыбе и в моллюсках, а также в мясе и свежих овощах [11].

Сепсис у человека, вызванный бактериями *Aeromonas*, очень опасен [13]. Аэромонады (в первую очередь *A. hydrophila* HG1, *A. veronii* серовариантов *Sobria* HG8 / 10 *A. caviae* HG4) могут вызвать истощение, диарею, особенно у детей [12]. До 8,1% случаев острых кишечных заболеваний у 458 пациентов в России были вызваны *Aeromonas* [15]. В этом исследовании изоляты аэромонад с теми же факторами патогенности были выделены из речной воды в дельте Волги, из рыбы, из сырого мяса и от пациентов с диареей. Большинство изолятов *Aeromonas* - психотропные и могут расти при температурах холодильника [10]. Это может привести к увеличению опасности загрязнения пищевых продуктов, особенно там, где существует возможность перекрестного загрязнения готовых к употреблению пищевых продуктов.

Наиболее часто для лечения и профилактики заболеваний аэромоноза карпов применяют антибиотики, нитрофурановые, сульфаниламидные препараты и основные красители [2, 4].

Недостатками данных способов лечения являются накопление антибиотиков и других антимикробных средств в организме рыбы, которые приводят к негативному воздействию на организм, обуславливают супрессивное действие на иммунитет, нарушение обмена веществ, снижение продуктивности. Некоторые из них (нитрофураны) нынешним законодательством ЕС уже запрещены к употреблению продуктивным животным, а использование антибиотиков способствует образованию антибиотикорезистентных популяций микроорганизмов, чем осложняет течение болезни и его диагностику. В то же время, покупатели этой рыбы, подвергают опасности возникновения аллергических реакций и идиосинкразий.

Известно, что нарушение иммунного статуса рыб вызывают увеличение чувствительности к условно-патогенной микрофлоре и других биотических и абиотических факторов окружающей среды [4].

В настоящее время наиболее перспективным направлением предотвращения заболеваний пресноводной рыбы является система профилактических мероприятий. Применение в рыбоводстве средств, повышающих иммунитет рыб, может быть решающим в профилактике возникновения различных эпизоотий.

Иммуностимуляторы – это препараты иммуномодулирующего действия, стимуляторы неспецифического иммунитета природного и синтетического происхождения: пептиды, полисахариды, моносахара, экстракты морских организмов, некоторые витамины. Применение иммуностимуляторов позволяет корректировать возникающие на этом фоне вторичные иммунодефициты и защищать гидробионтов от заболеваний. Способы применения иммуностимуляторов в аквакультуре – инъекции, ванны, скармливания [1, 2, 5].

Препарат "Авесстим^{ТМ}" применяют как иммуномодулятор для птицеводства [3] при лечении карпов от перниоза [7].

Препарат "Авесстим^{ТМ}" - (регистрационный № АВ 05365-01-14) серийное производит НПФ "Бровафарма". В качестве АДВ этого препарата служит морфолиний 2- [5- (пиридин-4-ил) -1,2,4-триазол-3-илтио] ацетат в количестве 2,0%. Данное химическое соединение из класса триазола обеспечивает комплексное воздействие на организм путем антиоксидантного действия, иммуномодуляции, нормализации обмена веществ, противовоспалительного эффекта, а также как средство профилактики инфекционных заболеваний.

Материалы и методы исследований. Для проведения опыта были сформированы по принципу аналогов три группы (n=6) карпов двухлеток, средняя масса тела которых составляла 410±16 г. Они были получены из Сумского рыбокомбината. Рыб контрольной и двух опытных групп поместили в отдельные аквариумы емкостью по 100 л., при температуре 19-20°C, с помощью искусственной аэрации в воде поддерживалась концентрация кислорода на уровне 7-10 г/м³. Период акклиматизации всех групп составлял 21 день. Бактериологические исследования, проведенные до начала заражения, не выявили в рыбе подопытных и контрольной групп наличие *Aeromonas hydrophila*.

В первый день рыбы опытной группы № 1 были перорально экспериментально инфицированы выделенным полевым изолятом *A. hydrophila* смывом по культуре в количестве 0,5 мл. при разведении 10⁷.

У рыб подопытной группы №1 на 10-е сутки после инфицирования наблюдали появление признаков, характерных для острой формы аэромоноза – асцит, покраснение наружных покровов, ерошение чешуи. В этот же день, после появления клинических признаков заболевания, всем рыбам опытной группы №1 начали задавать препарат "Авесстим^{ТМ}" индивидуально перорально из расчета 0,5 мл на 1 кг массы тела (что

адекватно 1 мг АДВ на 1 кг массы тела) путем предварительного смешивания препарата с 9,5 мл крахмального клейстера. Такой курс лечения проводили в течение пяти суток.

В первый день опыта рыбам подопытной группы № 2 задавали препарат "Авесстим™" индивидуально перорально из расчета 0,5 мл на 1 кг массы тела (что адекватно 1 мг АДВ (активно действующего вещества) на 1 кг массы тела) путем предварительного смешивания препарата с 9,5 мл крахмального клейстера, ежедневно, 1 раз в сутки в течение 5 суток с профилактической целью. На десятый день опыта провели пероральное заражения выделенным полевым изолятом *A. hydrophila* смывом по культуре в количестве 0,5 мл при разведении 10^7 . Такую лекарственно-комовую смесь скармливают карпам в дозе, которая соответствует 10 % расчетной массы тела рыб в конкретном водоеме (что соответствует 1 мг АДВ на 1 кг массы тела карпа), ежедневно в течение 5 суток.

Отбор крови из хвостовой артерии и исследования показателей во время опыта проводили на 1, 5, 10, 20 и 30-е сутки опыта.

Результаты исследований. В результате исследований были получены данные, отраженные в таблице 1.

Под действием *A. hydrophila* в опытной группе №1 достоверно ($P < 0,05$) в первые 10 суток после заражения снижается уровень общих Т-лимфоцитов, активных Т-лимфоцитов и иммуноглобулинов. На основе анализа приведенных показателей, допустимо утверждать, что применение препарата "Авесстим™" с десяти суток проведения опыта обеспечило увеличение количества общих Т-лимфоцитов, активных Т-лимфоцитов и иммуноглобулинов, наибольший уровень которых наблюдали на 30 сутки, которые достигли таких же показателей, что и в контроле за тот же период. Под влиянием препарата "Авесстим™" в первой опытной группе уровень В-лимфоцитов возрастал и наибольшего своего значения получил на 20-е сутки исследований ($24,97 \pm 1,57\%$), что свидетельствовало о иммуностимулирующем воздействии препарата.

Таблица 1 - Показатели Т- и В-лимфоцитов карпа и уровень иммуноглобулинов при применении препарата "Авесстим™", % ($M \pm m$, n=6)

Группы	Сутки	Общие Т-лимфоциты, %	Активные Т-лимфоциты, %	В-лимфоциты, %	Ig
Контроль	1	40,13±1,14	43,93±1,31	19,10±1,21	9,2±0,65
	5	39,69±1,23	41,57±1,29	20,36±1,03	9,1±0,89
	10	41,22±1,12	43,22±1,28	20,01±1,16	9,1±0,38
	20	41,32±1,14	42,57±1,24	20,21±1,24	9,4±0,36
	30	42,17±1,35	41,53±1,21	19,88±1,12	8,9±0,56
Опытная 1	1	40,62±1,23	45,94±1,14	21,24±1,25	8,8±0,38
	5	38,90±1,34*	38,45±1,36	18,65±1,11	7,9±0,37
	10	37,76±1,32*	37,67±1,19*	15,43±1,24	7,3±0,26 **
	20	41,62±1,31*	41,44±1,15**	24,97±1,57*	11,3±0,65 **
	30	42,02±1,27**	45,42±1,34*	23,65±1,23 **	12,4±0,68 **
Опытная 2	1	40,23±1,01	42,63±1,12	19,24±1,20	8,7±0,84
	5	45,90±1,34*	45,45±1,36	22,32±1,23	9,9±0,44
	10	45,94±1,32*	45,39±1,26**	23,51±1,22	11,8±0,34 **
	20	44,62±1,35*	47,44±1,16**	24,47±1,52*	14,3±0,65 **
	30	44,02±1,27**	45,42±1,32*	23,54±1,26 **	13,8±0,62 **

Примечания: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$

На 30-е сутки наблюдений в опытной группе №1 (20-е сутки с момента начала назначения препарата "Авесстим™") отметили полное исчезновение клинических признаков заболевания. Соответственно, данный препарат может быть использован с лечебной целью при аэромонозе карпов. При применении препарата "Авесстим™" в опытной группе №2 с профилактической целью и последующим заражением аэромонадами, отмечалось иммуностимулирующее воздействие препарата, который проявлялся увеличением количества общих Т-лимфоцитов, активных Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и иммуноглобулинов в течение всего периода наблюдений. Такая предварительная профилактическая обработка препаратом "Авесстим™" обеспечила отсутствие развития клинических признаков аэромоноза в опытной группе. В этой группе их отмечали на протяжении всего периода опыта. То есть препарат может быть использован еще и с профилактической целью при угрозе аэромоноза карпа.

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что препарат "Авесстим™" эффективен для лечения и профилактики аэромоноза карпов. Применение данного препарата позволило обеспечить 100% сохранность рыб в двух опытных группах.

Литература. 1.Березовський А.В. Основи виготовлення та застосування лікарсько-кормових сумішей (ЛКС) для оздоровлення прісноводних риб від хвороб бактеріальної та інвазійної етіології: методичні рекомендації / А.В. Березовський,

Р.В. Петров, Ю.В. Лобойко, О.В. Збожинська. – К.: ДІА, 2013. – 36 с. 2. Биологические препараты и химические вещества в аквакультуре / О.Н. Давыдов, А.В. Абрамов, Л.Я. Куровская, [и др.]. – К.: Логос, 2009. – 307 с. 3. Влияние препарата "Авесстим" на резистентность курчат-бройлеров А.В. Березовский, Г.А. Фотина <http://www.inenbiol.com/ntb/ntb7.html> - 2012. 4. Давыдов О.Н. Болезни пресноводных рыб / О.Н. Давыдов, Ю.Д. Темниханов. – К.: "Ветинформ", 2003. – 544 с. 5. Давыдов О.Н. Патология крови рыб / О.Н. Давыдов, Ю.Д. Темниханов, Л.Я. Куровская – К., 2005. – 210 с. 6. Иммуноморфология и функциональный процесс при экспериментальном инфицировании бактерией *Aeromonas hydrophila* / Хомякова Т.И., Макарова О.В., Козловский Ю.Е., Хомяков Ю.Н. // Актуальные проблемы транспортной медицины - № 1 (15), - 2009. – С. 59-63. 7. Лобойко Ю.В. З'ясування ефективності комплексного застосування "Бровермектин-грануляту"[™] та імуномодулятора "Авесстим"[™] за лернеозної інвазії коропа та їх впливу на організм риб / Ю.В. Лобойко, А.В. Березовський, В.В. Стилель, В.В. Парченко – "Ветеринарна біотехнологія" Бюлетень №22, 2013 – С. 338-344. 8. Супотницький М.В. Микроорганізми, токсини та епідемії / М.В. Супотницький. – Вузовська книга, 2000. – 376 с. 9. Collier D.N. Cutaneous infections from coastal and marine bacteria / D.N. Collier // *Dermatol. Ther.* – 2002. – 15:1/9. 10. Fernandes C.F. Growth of inoculated psychrotrophic pathogen on refrigerated fillet of a cultured rainbow trout and channel cat-fish. / Fernandes C.F., Flick G.J., Thomas T.B. // *J. Food Protect.*, 61, 1998. – P. 313–317. 11. Isonhood J.H. *Aeromonas* species in foods / Isonhood J.H., Drake M. // *J. Food Protect.*, 65, 2002. – P. 575–582. 12. Kirov S.M. Investigation of the role of type IV *Aeromonas* pilus (Tap) in the pathogenesis of *Aeromonas* gastrointestinal infection. / Kirov S.M., Barnett T.C., Pepe C.M., Strom M.S., Albert M.J. // *Infect. Immun.*, 68, 2000. – P. 4040–4048. 13. Lehane L. Topically acquired bacterial zoonoses from fish: a review. / Lehane L., Rawlin G.T. // *Med. J. Australia*, 173, 2000. – P. 256–259. 14. Llopis F. Epidemiological and clinical characteristics of bacteraemia caused by *Aeromonas* spp. as compared with *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* / Llopis F. Grau I., Tubau F.E. // *Scand J. Infect Dis.* - 2004. - 36:335/341. 15. Pogorelova N.P. Bacteria of the genus *Aeromonas* as the causative agents of saprophytic infection (in Russian). / Pogorelova N.P., Zhuravleva L.A., Ibragimov F.K.H., Iushchenko G.V. // *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.*, 4, 1995. – P. 9–12.

Статья передана в печать 15.04.2015 г.

УДК 619:579.873.21

ИММУНОПРЕЦИПИТАЦИЯ ОБЩЕРОДОВЫХ АНТИГЕНОВ КУЛЬТУРАЛЬНОГО ФИЛЬТРАТА *MYCOBACTERIUM BOVIS* ИММУНОГЛОБУЛИНАМИ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ОЧИЩЕННОГО АЛЛЕРГЕНА НА МОРСКИХ СВИНКАХ

Притыченко А.Н.

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

*Изучена возможность иммунопреципитации общеродовых антигенов культурального фильтрата *Mycobacterium bovis* иммуноглобулинами и стандартизация очищенного аллергена на морских свинках. Наиболее оптимальным методом стандартизации ОСА является его титрование на морских свинках, зараженных МБТ и НТМБ в сравнении с туберкулином. Оптимальным признается то разведение препарата, которое вызывает интенсивные реакции (не менее 10 мм) у животных, инфицированных МБТ и не вызывает их у зараженных НТМБ (папулы не более 5 мм).*

*Possibility of the immunoprecipitation of antigens to *Mycobacterium* genus of a cultural filtrate of *Mycobacterium bovis* by immunoglobulins and standardization of the purified allergen on guinea pigs are studied. The most optimum method of PSA standardization is titration on the guinea pigs infected with MBT and NTMB in comparison with the tuberculin. That titration of the tuberculin which causes intensive reactions (a papule is not less than 10 mm) on animals infected with MBT and does not cause the reactions (a papule is not more than 5 mm) on animals infected with NTMB admits optimum option.*

Ключевые слова: туберкулин, *Mycobacterium bovis*, аллерген, иммунопреципитация, стандартизация аллергенов, морские свинки.

Keywords: tuberculin, *Mycobacterium bovis*, allergen, immunoprecipitation, standardization of allergens, guinea pigs.

Введение. Проблема туберкулёза крупного рогатого скота, по прежнему остаётся актуальной. Для аллергической диагностики туберкулёза в Республике Беларусь, преимущественно, используют туберкулин очищенный для млекопитающих, производства ОАО «БелВитунифарм». Несмотря на благополучие по туберкулёзу, которое обеспечивается проведением плановых массовых мероприятий, существует проблема видовой специфичности туберкулинов [7].

Основной проблемой туберкулино-диагностики считаются неспецифические (парааллергические) реакции [1]. Еще в 30-е годы прошлого века такие реакции начали связывать с инфицированием животных НТМБ, имеющих общие антигены с МБТ [8]. Однако, ранее использовавшийся ГОСТ 16739-88 оценки качества ППД туберкулина не предусматривал параметра видовой специфичности. Этот параметр рекомендован МЭБ [15].

В рамках традиционных технологий решить проблему существенного повышения специфичности туберкулинов не удалось. С середины XX века, были начаты исследования по выделению видоспецифичных антигенов МБТ [6, 11]. Однако лишь в последние годы XX столетия, благодаря прогрессу в области фракционирования и очистки макромолекул, были получены индивидуальные иммунохимически чистые микобактериальные антигены [4, 6, 10]. Несмотря на значительный вклад в этом направлении, ни один из очищенных физико-химическими методами антиген МБТ не был внедрён в практику диагностики туберкулёза

[14], за исключением высокоактивных, но низкоспецифичных полисахаридных антигенов типа А60 [10]. Это касается и индивидуальных рекомбинантных антигенов и их коктейлей [9].

В направлении получения более специфичных туберкулинов интерес представляют исследования по групповому фракционированию антигенов МБТ. Впервые, R. Moulton, T. Ditz, S. Marcus (1972), фракционируя PPD-S на сефадексе G-200, установили, что основная часть туберкулино-активных веществ, дающих перекрестные реакции у морских свинок, зараженных *M. kansasii*, элюируются в I пике с массой молекул более 200 кДа [13]. Если для фракционирования использовали сефадекс G-150, специфичность высокомолекулярного пика была несколько выше за счет присутствия в нём молекул меньшего размера [5]. Таким образом, удалением высокомолекулярной фракции удавалось достоверно повысить специфичность целевого продукта, но получить строго специфичный препарат не удалось даже при использовании дополнительных этапов и сочетании методов очистки. Чешские, американские и шведские учёные пятикратно осаждали культуральный фильтрат *M. tuberculosis* H₃₇R_v СА, подвергали ультрафильтрации на мембранах 10 kDa, а полученные фракции разделяли в электрофорезе в 4,75%, 7% и 15% ПААГе. При испытании электрофоретических фракций, выделенных из ПААГ на морских свинках, заражённых *M. tuberculosis*, *M. kansasii*, *M. Intracellulargae*, было установлено, что такой сложный процесс фракционирования лишь незначительно повысил их молекулярную гомогенность и специфичность в сравнении с PPD-S [12].

Использование гель-фильтрации в промышленном получении туберкулина оказалось невозможным из-за малого объёма очищаемого материала и длительности процесса, но развитие техники ультрафильтрации, позволяющей разделять большие объёмы биологических жидкостей, сделало технологичным процесс группового фракционирования молекул по размерам [2].

В 1975 году Turcotte показал, что адсорбция протоплазматического экстракта *M. tuberculosis* антителами к *M. kansasii* на 55% снижает его туберкулиновую активность. При этом он теряет способность вызывать аллергическую реакцию у морских свинок, сенсibilизированных *M. kansasii* [16]. Hamman et al (1989) и А.П. Лысенко (1994), используя этот принцип, получили видоспецифичные аллергены [6], успешно испытанные на крупном рогатом скоте [3]. Однако, отсутствие в то время технологичных методов разделения макромолекул не позволило организовать массовое производство аллергенов с повышенной специфичностью.

Таким образом, существовавшие методы контроля туберкулина не предусматривают тест на уровень перекрестных реакций, а физико-химические методы очистки микобактериальных антигенов и использование рекомбинантных технологий не позволили получить перспективный коммерческий препарат для диагностики туберкулёза крупного рогатого скота. Наиболее перспективным является повышение специфичности туберкулина за счёт группового фракционирования и удаления высокомолекулярной фракции, а также биоспецифичный метод удаления общеродовых антигенов.

Цель исследований - изучение возможностей иммунопреципитации общеродовых антигенов культурального фильтрата *Mycobacterium bovis* иммуноглобулинами и стандартизация очищенного аллергена на морских свинках.

Материал и методы исследований. Работа выполнена на кафедре микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ, в отделе зоонозов и разработки диагностических препаратов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

В работе использовали штаммы *M. bovis* № 8, *M. bovis* Vallee, *M. bovis* БЦЖ-1, а также штаммы *M. bovis* БЦЖ, *M. bovis* СР₂, *M. avium* 1603, *M. terrae* 15722 АТСС, *M. fortuitum* 342, *M. phlei* 1889, *M. tuberculosis* H₃₇R_v. Среды: Гельберга, Павловского, Сотона, Микофаст.

Для идентификации штаммов использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР), которую ставили по стандартному протоколу на амплификаторе Bio-Rad C1000 с праймерами IS1081, IS81, IS6110, ET (ИБОХ НАН Беларуси).

Антигенный состав производственных штаммов и туберкулинов изучали с использованием бычьих, бараньих и кроличьих антисывороток к соникатам инактивированной 3-5% фенолом бактериальной массы *M. bovis* 8, *M. bovis* Vallee, *M. avium* 1603, *M. scrofulaceum* 526, *M. fortuitum* 342, *M. phlei* 1889.

Антигены получали дезинтеграцией инактивированной 3-5% фенолом бактериальной массы микобактерий на ультразвуковых дезинтеграторах УЗДН-1 и Vandelin (5-10 мг/мл в 0,5% феноле, pH 7,2, 15 кГц, 100 В/см², 15-20 мин).

Иммунопреципитацию проводили по общепринятой методике.

Ультрафильтрацию проводили на ультрафильтре Minitan II S (Millipore) с мембранами РНТК с пределом задержания 300, 100, 30 и 10 kDa, на ультрафильтре с полыми волокнами 300 и 15 К (Биосарт).

Серии ОСА исследовали в кожной пробе на морских свинках.

Результаты исследований. Очистка автоклавированного культурального фильтрата включала следующие этапы: концентрирование осаждением ТХУ, ультрафильтрация для отделения высокомолекулярной фракции, иммунопреципитация антителами, удаление иммунных комплексов путем осаждения ПЭГ и ультрафильтрацией.

В результате были получены 6 серий продукта, условно названного ОСА (очищенный специфический аллерген). С учетом варьирования условий очистки проблемой явилась стандартизация получаемого продукта. Ее основным критерием был выбор такого разведения ОСА, в котором он вызывает интенсивные реакции у животных, зараженных МБТ, а особи, инфицированные НТМБ, на него не реагируют.

В таблице 1 приводятся результаты испытания ОСА серии 1 ип в кожной пробе на морских свинках. Предварительно ОСА развели в соотношении 2 мл + 7,5 мл растворителя и сделали разведения 1:20, 1:40, 1:100. Разведения ТО и ОСА по 0,2 мл вводили морским свинкам, инфицированным *M. bovis* и НТМБ (таблица 1).

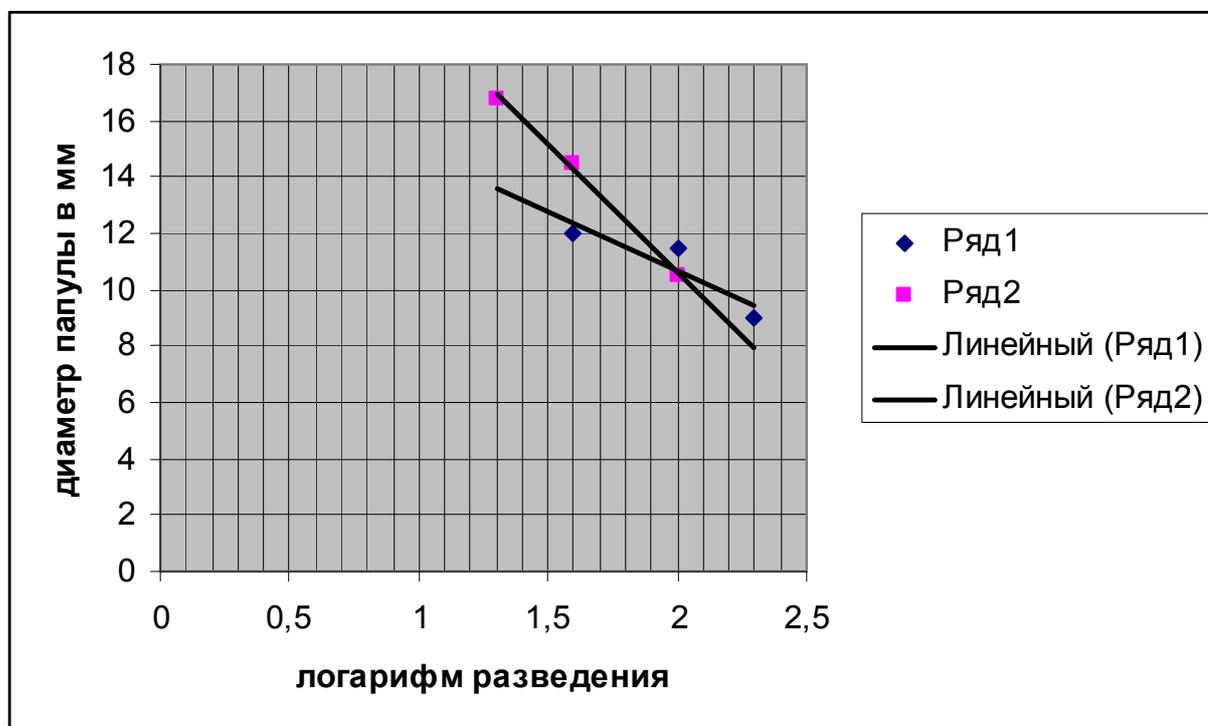
Таблица 1 – Среднеарифметические размеры папул в мм на введение ТО серии 66 и ОСА у здоровых морских свинок, инфицированных НТМБ и МБТ

Группы морских свинок	Разведения ТО сер. 66			Разведения ОСА сер. 1 ип		
	1:40	1:100	1:200	1:20	1:40	1:100
Здоровые	0	0	0	0	0	0
НТМБ	6,0	4,0	2	0	0	0
M. bovis	12,0	11,5	9,0	16,8	14,5	10,5

Как видно из таблицы 1, ОСА не вызывал изменений в коже здоровых морских свинок, следовательно, был нереагтогенным. ТО вызывал реакции (до 6 мм) у морских свинок, инфицированных НТМБ. На ОСА таких реакций не отмечено.

Активность ТО 66 и ОСА сер. 1 ип у морских свинок, зараженных M. bovis, сопоставлена на рисунке 1. Линии активности препаратов пересекались, что свидетельствует о различиях в их биологических свойствах. В концентрированных растворах активность ОСА была выше, чем у ТО, но в разведённом состоянии – меньше, что свидетельствует о более узком наборе антигенов в ОСА.

Суммарная разница расстояния между линиями активности составила 0,23 log. $\text{antilog } 0,23$ равняется 1,69. Следовательно, испытанный ОСА (разведенный 2 мл + 7,5 мл растворителя), можно дополнительно разводить добавлением на 1 мл - 0,69 мл растворителя.

**Рисунок 1 - Зависимость аллергической активности ОСА сер. 1 ип от логарифма разведения у морских свинок, инфицированных M. bovis**

В таблице 2 представлены результаты исследования ОСА серии 7-15 после разведения 1+0,69 и ОСА серии 1-2 (в разведениях 1:40 и 1:80). Установлено, что ТО (1:40) давал выраженные перекрёстные реакции у морских свинок, зараженных НТМБ, причем через 48 часов различий в интенсивности реакций в гомологичной и гетерологичной системе практически не было. Обе серии ОСА оказались достоверно специфичнее ТО (разница 7,2-10,2 мм). При разведении ОСА с 1:40 до 1:80 активность обеих серий даже возрастала. Последующее разведение несколько снижало активность ОСА, но повышала специфичность.

Таблица 2 – Активность и специфичность ОСА серии 7-15+0,69 и ОСА сер1-2 (размер папул в мм)

Группы	ТО 1:40	ОСА 7-15 1:40	ОСА 7-15 + 0,69, 1:40	ОСА 7-15 + 0,69, 1:80	ОСА 1-2 1:40	ОСА 1-2 1:80
Через 24 ч						
M. bovis	15,3	16,4	16,7	15,4	15,3	18
НТМБ	11,0	6,2	5,3	7,1	8,1	7,1
Разница	4,3	10,2	11,4	8,3	7,2	10,9
Через 48 ч						
M. bovis	11,0	13,1	12,4	12,6	16,9	13,5
НТМБ	12,0	10,7	8,0	8,0	12,8	9,8
Разница	-1	2,3	4,4	4,6	4,1	3,7

Для дальнейшего титрования ОСА и подбора концентрации, не вызывающей перекрестных реакций у морских свинок, сенсibilизированных НТМБ, провели исследование:

- №1- ТО с.66 1:40 (контроль);
- №5 -ОСА с.5-15 0,5 мл+0,35 растворителя – 0,25 мл+10 мл растворителя;
- №2 -разведение №5 + равный объем растворителя (1:80);
- №4- ОСА с.5-15 1:40;
- №3- ОСА с.1200 1:40;
- №6 ОСА с.1200 1:80.

Результаты учёта реакций представлены в таблице 3. Как видно, все разведения ОСА вызывали выраженные аллергические реакции у морских свинок, заражённых *M. bovis*, которые по интенсивности достоверно не отличались от ТО в разведении 1:40. Вместе с тем, у морских свинок заражённых НТМБ реакции на ОСА были заметно меньше, чем на туберкулин, а у варианта №5 они находились на нижней границе положительной реакции (5,3±1,4 мм).

Таблица 3 - Диаметры папул в мм у морских свинок, сенсibilизированных *M. bovis* ВСГ и НТМБ

Группы	№1- ТО с.66 1:40	Разведение №2 + равный объем растворителя (1:80)	Разведение №3- ОСА 1200 1:40;	Разведение №4- ОСА 5- 15 1:40;	Разведение №5 - ОСА 5-15 0,5 мл + 0,35 растворителя – 0,25 мл+10 мл растворителя	Разведение №6 ОСА 1200 1:80
M.bovis 1	11	13	15	16	19	15
M.bovis 2	15	18	16,5	16	18	24
M.bovis 3	16,5	14	16	17	17	15
M.bovis 4	17	16	15	18	16,5	18
M.bovis 5	17	16	14	15	13	18
M±m	15,3±1,2	15,4±0,95	15,3±0,47	16,4±0,6	16,7±0,97	18,0±1,5
НТМБ1	13,5	10	11,5	4	8	13
НТМБ2	15	10,5	13	13	12	12,5
НТМБ3	9	4	4	6	3	3
НТМБ4	5	3	3	3	3	3
НТМБ5	6	3	3	3	3	3
НТМБ6	10	5,5	3	3	2	2
НТМБ7	6,5	3	2	4,5	2	2
НТМБ8	9,5	7	11	5	2	9
НТМБ9	9,5	3	3	3	3	3
НТМБ10	18,5	14	19,5	11,5	15	15
НТМБ11	18	14,5	15,5	10	5	12,5
M±m	11±1,2	7,1±1,5	8,1±2,2	6,2±1,2	5,3±1,4	7,1±1,9

В таблице 4 представлены результаты статистической обработки сравнения интенсивности реакций в группах морских свинок, сенсibilизированных *M. bovis* и НТМБ.

Таблица 4 - Сравнение интенсивности реакций в группах морских свинок, сенсibilизированных *M. bovis* и НТМБ

Группы	№1- ТО с.66 1:40	№2 + равный объем растворителя (1:80)	№3- ОСА1200 1:40	№4- ОСА 5-15 1:40	№5 -ОСА 5-15 0,5 мл + 0,35 растворителя – 0,25 мл +10 мл растворителя	№6 ОСА 1200 1:80
M. bovis ВСГ	15,3±1,2	15,4±0,95	15,3±0,47	16,4±0,6	16,7±0,97	18,0±1,5
НТМБ	11±1,2	7,1±1,5	8,1±2,2	6,2±1,2	5,3±1,4	7,1±1,9
Различия в интенсивности реакций (мм) между M. bovis и НТМБ	4,3	8,3	7,2	10,2	11,4	10,9
Достоверность различий P %	P = 3%	P меньше 0,1%	P = 0,8%	P меньше 0,1%	P меньше 0,1%	P меньше 0,1%

Как видно из таблицы 4, испытанные аллергены вызывали у морских свинок, заражённых НТМБ, достоверно менее интенсивные реакции, чем у заражённых *M. bovis*. Наибольшая разница отмечалась у разведений ОСА серии 5-15, которую далее обозначили и использовали, как ОСА серии 1 ип.

Для стандартизации оптимальной серией препарата ОСА 1 ип провели опыт на морских свинках с использованием ТО 66 в разведении 1:40 (контроль) и ОСА 1 ип в разведениях:

- 1,8 мл концентрата+7,2 мл растворителя;
- 0,9 мл концентрата+7,2 мл растворителя;
- 0,6 мл концентрата+7,2 мл растворителя.

Реакции учитывали через 24 ч, определяя размеры папул (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты определения оптимального разведения ОСА 1 ип. Диаметры папул в мм у морских свинок, сенсбилизированных M. bovis BCG и НТМБ

Группы	ТО 66	ОСА 1,8 мл концентрата +7,2 мл растворителя	ОСА 0,9 мл концентрата +7,2 мл растворителя	ОСА 0,6 мл концентрата +7,2 мл растворителя
M. bovis 1	13,5	13	9	7,5
M. bovis 2	13	11	11	9
M. bovis 3	13,3	10,5	7,5	5
M. bovis 4	11	11,5	11	7,5
M. bovis 5	17	14	11	4
M. bovis 5	17,5	17	11,5	11
M. bovis 6	14	12	9	8
M. bovis 7	14,5	14	14,5	11
M. bovis 8	15,5	14	15	6
M. bovis 9	16	11,5	14	12
M. bovis 10	10,5	8,5	13	8
M±m	14,2±0,69	12,5±0,7	11,5±0,75	8,1±0,76
НТМБ 1	8	6	7	3
НТМБ 2	3	0	2	3
НТМБ 3	4	2	2	3
НТМБ 4	11	3	3	3
НТМБ 5	4	2	2	2
M±m	6±1,75	3±1,0	3,2±0,95	2,8±0,35

Установлено, что в разведении 1,8+7,2 ОСА вызывал аллергические реакции у морских свинок группы M. bovis, которые не отличались по интенсивности от ТО в разведении 1:40. Вместе с тем, это разведение ОСА в отличие от ТО, не вызывало реакций в группе НТМБ. В разведении ОСА 0,6 мл концентрата + 7,2 мл растворителя перекрёстные реакции отсутствовали у всех животных, инфицированных НТМБ. Следовательно, оптимальным разведением концентрата ОСА является 1:8-1:10.

Заключение. Проведённые исследования позволили установить, что наиболее оптимальным методом стандартизации ОСА является его титрование на морских свинках, зараженных МБТ и НТМБ в сравнении с туберкулином. Оптимальным признается то разведение препарата, которое вызывает интенсивные реакции (не менее 10 мм) у животных, инфицированных МБТ и не вызывает их у зараженных НТМБ (папулы не более 5 мм).

Литература. 1. Агапова, М.Ф. Эпизоотологическое обоснование и экономическая эффективность рациональной дифференциальной диагностики туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / М.Ф. Агапова ; ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО РАСХН. – Новосибирск, 2006. – 19 с. 2. Козлов, В.Е. Аллергены для диагностики туберкулеза : совершенствование производства и стандартизация : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 16.00.03 ; 03.00.23 / В.Е. Козлов ; ФГУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» – Москва, 2007. – 43 с. 3. Кузнецов, Н.А. Оценка и прогнозирование эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота по результатам аллергической диагностики, методы и средства ее совершенствования : автореф. дис. ... канд. вет. наук / Н.А. Кузнецов ; Академия аграрных наук Республики Беларусь. Белорусский НИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 2000. – 19 с. 4. Литвинов, В.И. Выделение иммуносорбентной аффинной хроматографией антигена M. bovis БЦЖ, его характеристика и использование для определения противотуберкулёзных антител / В.И. Литвинов, Л.Н. Черноусова, Б.Ш. Гильдбург // Иммунология. – 1988. – № 5. – С. 46–48. 5. Лысенко, А.П. Антигенные комплексы Mycobacterium bovis и их значение в диагностике туберкулёза : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / А.П. Лысенко ; БелНИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 1984. – 24 с. 6. Лысенко, А.П. Антигены M. bovis и атипичных микобактерий, изучение и применение для дифференциальной диагностики туберкулёза крупного рогатого скота : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 16.00.03 / А.П. Лысенко ; БелНИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 1994. – 35 с. 7. Притыченко, А.Н. Туберкулин очищенный для млекопитающих (оптимизация очистки, диагностические и иммунохимические свойства) : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / А.Н. Притыченко ; БНИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. – Минск, 2002. – 17 с. 8. Юсковец, М.К. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птиц / М.К. Юсковец. – Минск : Ураджай, 1963. – 448 с. 9. Adams, L.G. In vivo and in vitro diagnosis of Mycobacterium bovis infection / L.G. Adams // Rev. sci. tech. int. Epiz. – 2001. – Vol. 20 (1). – P. 304–324. 10. Cocito, C. Preparation and properties of antigen 60 from M. bovis BCG / C. Cocito, F. Vanlinden // Clin. exp. Immunol. – 1986. – Vol. 66. – P. 262–272. 11. Fifis, J. Soluble Mycobacterium bovis protein antigens: studies on their purification and immunological evaluation / J. Fifis, J.S. Rothe, P.R. Wood // Microbiol. – 1994. – № 40. – P. 65–81. 12. Kooperativni mezilaboratori studie species-specifického tuberculinu pro kozni testy nahomologne a heterologne Zenzibilizovanych morcatech / L.F. Affronti [et al] // Studia pneumologica et phthisiologica cehoslovaca. – 1985. – Vol. 45. – P. 3–14. 13. Moulton, R. Isolation of specific and nonspecific components from purified proteins derivative / R. Moulton, T. Dietz, S. Marcus // Am. Rev. Resp. Dis. – 1972. – Vol. 106. – P. 213–216. 14. OIE Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals // Fifth Edition. – 2004. – Vol. 1. – P. 723. 15. Palmer, D. N. Bovine tuberculosis in OIE manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, 5th ed. / D. N. Palmer // World Organisation for Animal Health, France [Electronic resource] – 2004. – Mode of access: [http : //www.oie.int/eng/normes/en_mmanual.htm](http://www.oie.int/eng/normes/en_mmanual.htm). 22. – Data of access : 23.07.2004. 16. Turcotte, R. Purification and characterization of tuberculin-active components from BCG / R. Turcotte, M. Laguerre, // Can J Microbiol. : - 27. J. Gen. Microbiol. – 1975. – Dec; 21 (12). – P. 2019.

Статья передана в печать 21.04.2015 г.

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОСТНОГО МОЗГА ДЛЯ ОЦЕНКИ ИММУНОГЕННОСТИ ВАКЦИН И ПАТОГЕННОСТИ ВИРУСОВ У ЖИВОТНЫХ

Прудников В.С., Никитенко И.Г., Громов И.Н., Селиханова М.К.

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

Морфологическое исследование костного мозга способствует комплексному изучению системы иммунитета и определению иммунного статуса животных при болезнях, вакцинациях и иммунокоррекции.

Morphological examination of the bone marrow contribute to a comprehensive study of the immune system and to determine the immune status of the animals from diseases, vaccination and immunocorrection.

Ключевые слова: гистологическое исследование, костный мозг, вакцинация, лептоспироз, ньюкаслская болезнь, инфекционный бронхит, синдром снижения яйценоскости, инфекционная анемия цыплят, свиньи, куры.

Keywords: histological study, bone marrow, vaccination, leptospirosis, Newcastle disease, infectious bronchitis, Egg Drop Syndrome, chicken infectious anemia, pigs, hens.

Введение. Костный мозг является центральным органом кроветворения и иммунитета. Он также участвует в костеобразовательных процессах, депонировании крови, обмене белков, жиров, углеводов, витаминов и минеральных веществ в организме. В зависимости от выполняемой функции различают три стадии развития костного мозга, последовательно сменяющие друг друга: стадия остеобластического (костеобразовательного) костного мозга преобладает в эмбриональный период развития, стадия красного (кроветворного) костного мозга выполняет главную функцию образования всех клеток крови и иммунной системы, и желтого костного мозга, который появляется после рождения в диафизах трубчатых костей и постепенно замещает красный [3, 6].

Красный костный мозг представляет собой вещество темно-красного цвета, полужидкой консистенции. Содержится у взрослых животных в губчатом веществе костей свода черепа, ребер, грудины, в телах позвонков, эпифизах трубчатых костей. Строма его представляет собой связанную с эндоостом и кровеносными сосудами ретикулярную ткань (ретикулярные клетки, ретикулярные и коллагеновые волокна). Кровеносные сосуды костного мозга составляют до 50% его массы. Паренхима костного мозга представлена миелоидной тканью, которая содержит основную популяцию стволовых кроветворных клеток, являющуюся родоначальницей всех клеток крови и лимфы.

Гемопоэтические клетки, как правило, располагаются островками, образуя скопления бластных, дифференцирующихся и зрелых форм эритроцитопоэтического, гранулоцитопоэтического, лимфоидного и мегакариотарно-тромбоцитопоэтического рядов. Дифференцирующиеся лимфоциты и моноциты расположены преимущественно вблизи кровеносных сосудов в виде единичных клеток или мономорфных скоплений. Наиболее интенсивное кроветворение отмечается вблизи эндооста, где более высокая концентрация стволовых клеток. Созревающие клетки поступают в синусоидные (венозные) капилляры костного мозга, где некоторое время дозревают, а затем выносятся в общий кровоток и заселяют иммунокомпетентные органы [3, 4, 6].

Исследование костного мозга является неотъемлемой частью комплексного изучения системы иммунитета и определения иммунного статуса животных при болезнях, вакцинациях и иммунокоррекции.

Целью наших исследований явилось морфологическое исследование костного мозга животных, используя при этом способ приготовления гистологических препаратов, разработанный сотрудниками кафедры патологической анатомии и гистологии УО ВГАВМ, который позволяет наилучшим образом выявлять и дифференцировать все структурные элементы органа.

Материалы и методы исследований. Исследования состояли из трех опытов. В 1 опыте нами было проведено морфологическое исследование костного мозга 60 свиней (в возрасте 6 месяцев, подобранных по принципу аналогов и разделенных на 5 групп по 12 животных), иммунизированных инактивированной вакциной против лептоспироза с различными адъювантами и иммуностимуляторами. Свиней 1-й группы иммунизировали вакциной, содержащей в качестве адъюванта гидроокись алюминия (вакцина гидроокисьалюминиевая). Животным 2-й группы вводили вакцину, в которой в качестве адъюванта использовали 30%-й раствор натрия тиосульфата (вакцина тиосульфатная). Свиней 3-й группы иммунизировали вакциной, содержащей в качестве адъюванта минеральное масло «Маркол-52» в смеси с эмульгатором (вакцина эмульгированная). Животным 4-й группы вводили ту же вакцину, что и свиньям 3-й группы, с добавлением в нее натрия тиосульфата до 30%-ной концентрации (вакцина эмульгированная совместно с натрия тиосульфатом). Все опытные образцы вакцины были изготовлены в условиях ОАО «БелВитУнифарм». Интактные животные 5-й группы служили контролем. На 7-й, 14-й и 21-й дни после вакцинации производили убой 4 животных из каждой группы, для проведения морфологических исследований отбирали кусочки грудной кости.

Во 2 опыте нами были изучены морфологические изменения в костном мозге ремонтного молодняка кур при парентеральной иммунизации их против ньюкаслской болезни (НБ), инфекционного бронхита кур (ИБК) и синдрома снижения яйценоскости-76 (ССЯ-76) жидкой инактивированной ассоциированной эмульсин-вакциной, разработанной в ИЭВ им. С.Н. Вышелеского НАН Беларуси. Всего было использовано 400 птиц 110-дневного возраста, подобранных по принципу аналогов и разделённых на 2 группы по 200 птиц в каждой. Молодняк кур 1 (опытной) группы иммунизировали против НБ, ИБК и ССЯ. Вакцину вводили согласно инструкции по ее

применению, в 110-дневном возрасте, однократно, внутримышечно, в область грудных мышц, в дозе 0,5 мл. Интактная птица 2 группы служила контролем. За птицей было установлено клиническое наблюдение. На 3, 7, 14, 21 и 28 дни после вакцинации по 4-5 птиц из каждой группы убивали. Для морфологических исследований от птиц отбирали кусочки большеберцовой кости.

В 3 опыте нами были изучены структурные изменения в костном мозге цыплят при экспериментальном заражении вирусом инфекционной анемии (ИАЦ). Исследования были проведены на СГФ-цыплятах суточного возраста. Птица была подобрана по принципу аналогов и разделена на 2 группы, по 15 цыплят в каждой. Цыплят 1 группы в суточном возрасте внутримышечно заражали изолятом «Краснодарский» («АБИМ») вируса инфекционной анемии. Интактные цыплята 2 группы служили контролем. За всей птицей было установлено клиническое наблюдение. На 21 день после заражения цыплят убивали для проведения морфологических исследований костного мозга.

Приготовление гистологических препаратов костного мозга осуществляли следующим образом.

1. Отбор материала. У млекопитающих отбирали кусочки грудины, ребер, костей свода черепа, тел позвонков, эпифизов трубчатых костей, а у птиц – кусочки бедренной, большеберцовой и плюснево-заплюсневой костей.

2. Фиксация кусочков 10%-м раствором формалина в течение 24 часов.

3. Декальцинация костной ткани 1 н раствором уксусной кислоты до ее размягчения.

4. Обезвоживание в спиртах возрастающей концентрации и заливка в парафин общепринятым методом.

5. Изготовление срезов на санном или ротационном микротоме общепринятым методом.

6. Депарафинирование в ксилоле и спирте общепринятым методом.

7. Окраска стандартной краской Май-Грюнвальда в течение 3 минут.

8. Ополаскивание срезов в дистиллированной воде, подкисленной уксусной кислотой (2-3 капли ледяной уксусной кислоты на 200 мл воды), до тех пор, пока будут отходить облачка азура (20-30 сек).

9. Окраска срезов рабочим раствором краски Романовского-Гимза в течение 10 минут.

10. Ополаскивание гистосрезов в водопроводной воде в течение 1 минуты.

11. Обезвоживание в 96° спирте в течение 1 минуты.

12. Просветление в ксилоле в течение 1 минуты.

13. Заключение в полистирол [5].

При морфологическом изучении препаратов изучали гистоархитектонику органа, выявляли и дифференцировали структурные элементы, миелограмму выводили на основании дифференцированного подсчета 1000 клеток, придерживаясь унитарной теории кроветворения, предложенной И.Л. Чертковым и А.П. Воробьевым, руководствуясь морфологическим описанием клеток кроветворных органов и крови по И.М. Карпутью. Наряду с оценкой миелограммы выводили парциальные формулы различных групп клеток костного мозга [1, 2].

Результаты исследований. Проведенные исследования красного костного мозга свиней на фоне вакцинации против лептоспироза, ремонтного молодняка кур при вакцинации против инфекционного бронхита, ньюкаслской болезни и синдрома снижения яйценоскости, а также здоровых и больных инфекционной анемией цыплят показали, что использование данного способа приготовления гистологического препарата костного мозга позволяет выявить клетки лимфоидного (лимфоциты, плазматические клетки), миелоидного (нейтрофильные, эозинофильные и псевдоэозинофильные, базофильные гранулоциты и моноциты), эритроидного (базофильные, полихроматофильные и оксифильные нормоциты) и мегакариоцитарно-тромбоцитарного рядов на разных стадиях созревания, а также элементы костной и ретикулярной тканей, эндотелиальные клетки сосудов, фибробласты соединительной ткани, липоциты.

Результаты исследований в 1 опыте показали, что в костном мозге свиней, иммунизированных против лептоспироза, на 7-й день после вакцинации наблюдается повышение на 20,2–42,8% содержания лимфоцитов и в 3,8 раза – плазматических клеток, увеличение в 1,9 раза лейкоэритробластического индекса и снижение в 1,3–1,8 раза общего количества клеток эритробластического ряда по сравнению с контролем. При иммунизации эмульгированной вакциной без и совместно с натрия тиосульфатом отмечается увеличение на 20,1 и 10,5% соответственно количества клеток миелобластического ряда, преимущественно за счет клеток нейтрофильной группы, отмечается повышение в 1,6 раза содержания моноцитов и увеличение в 1,4 и 1,5 раза соответственно костномозгового индекса созревания нейтрофилов по сравнению с интактными животными. На 14-й день после иммунизации в миелограмме вакцинированных свиней всех групп наблюдается повышение на 14,1–27,0% общего количества клеток миелобластического ряда, в основном за счет клеток нейтрофильной группы, увеличение в 4,0–5,9 раза содержания плазматических клеток и уменьшение в 1,5 раза общего количества клеток эритроидного ряда по сравнению с контрольными данными. Применение гидроокисьалюминиевой вакцины способствует увеличению в 1,6 раза содержания мегакариоцитов по отношению к интактным животным. Иммунизация свиней эмульгированной вакциной без и совместно с натрия тиосульфатом сопровождается уменьшением на 35,2% содержания клеток эозинофильной группы и увеличением в 1,4 раза индекса созревания нейтрофилов по отношению к контролю. При использовании гидроокисьалюминиевой, эмульгированной без и совместно с натрия тиосульфатом вакцины отмечается по сравнению с невакцинированными животными увеличение в 1,8–2,3 раза лейкоэритробластического индекса. У свиней, иммунизированных эмульгированной вакциной, во все сроки исследований наблюдается увеличение в 3,2 раза содержания базофилов по отношению к контролю. На 21-й день после вакцинации в миелограмме подопытных свиней отмечается выравнивание показателей миело- и эритробластического рядов, за исключением животных, иммунизированных эмульгированной вакциной, у которых наблюдается увеличение на 23,0% общего количества нейтрофилов, снижение на 30,2% содержания клеток эритробластического ряда, а также увеличение в 4,1 раза количества плазматических клеток по сравнению с интактными животными. У вакцинированных свиней всех групп отмечается повышение в 1,1–1,6 раза костномозгового индекса созревания нейтрофилов по отношению к контролю.

При гистологическом исследовании костного мозга молодняка кур во 2 опыте нами установлено, что у птиц 1 группы на 3 день после вакцинации против НБ, ИБК и ССЯ-76 выявлено достоверное увеличение в 1,2-1,3 раза числа псевдозозинофилов и тромбоцитов различной степени зрелости по сравнению с контролем. Одновременно происходило повышение лейкоэритробластического индекса в 1,3 раза ($P < 0,05$). В то же время содержание клеток эритроцитарного ряда у вакцинированного молодняка кур достоверно уменьшалось на 20% по сравнению с птицей контрольной группы. Число моноцитов, плазмоцитов и лимфоцитов у птиц 1 и 2 групп было примерно одинаковым. На 7 день эксперимента общее количество зернистых лейкоцитов в костном мозге вакцинированного молодняка кур достоверно превышало контрольные данные в 1,2-1,4 раза, а лейкоэритробластический индекс – в 1,3 раза. Содержание клеток эритроцитарного ряда у подопытных птиц было по-прежнему меньше, чем в контроле ($P < 0,05$). Через 14 дней после проведения вакцинации в костном мозге птиц 1 группы количество клеток псевдозозинофильного и зозинофильного рядов снижалось по сравнению с предыдущим сроком исследований, а содержание эритроцитов, наоборот, увеличивалось. Лейкоэритробластический индекс у иммунизированного молодняка кур снижался по сравнению с исходными данными. В отдаленные сроки (на 21 и 28 дни после ассоциированной вакцинации) показатели миелограммы и парциальные формулы различных групп костномозговых клеток у птиц 1 и 2 групп были примерно одинаковыми.

Результаты исследований в 3 опыте показали, что в миелограмме цыплят на 21 день после заражения вирусом ИАЦ происходило достоверное уменьшение в 1,3 раза общего количества гранулоцитов по сравнению с контролем. Изменение данного показателя происходило в основном за счет клеток псевдозозинофильного ряда. Общее количество эритробластических клеток в миелограмме подопытных птиц уменьшалось с $47,00 \pm 1,18$ % (контроль) до $33,15 \pm 1,24$ % ($P < 0,001$), а число лимфоцитов, наоборот, увеличивалось в 2 раза ($P < 0,01$). Различия в показателях по тромбоцитарному и моноцитарному рядам клеток между 1 и 2 группами птицы были недостоверными. В костном мозге птиц опытной группы отмечено также снижение лейкоэритробластического индекса в 1,8 раза ($P < 0,01$), а также индексов созревания эозинофилов в 1,4 раза ($P < 0,05$) и псевдозозинофилов в 1,3 раза ($P > 0,05$) по сравнению с контрольными значениями.

Заключение. Таким образом, проведенные нами исследования показали, что приготовление препаратов костного мозга данным способом обеспечивает наилучшую окраску всех структур клетки (ядро, цитоплазма, зернистость гранулоцитов), что позволяет провести дифференцировку различных генераций гемопоэтических клеток животных. Нами также было установлено, что в костном мозге иммунизированных против лептоспироза свиней увеличивается, по сравнению с интактными животными, в 3,0–5,9 раза число плазматических клеток, на 20,2–42,8% повышается содержание лимфоцитов, на 10,5–27,0% – количество миелобластических клеток, в 1,9 раза возрастает лейкоэритробластический индекс, в 1,1–1,6 раза усиливается костномозговой индекс созревания нейтрофилов, что указывает на активную гиперплазию и омоложение клеток белой крови. Морфологическая перестройка костного мозга молодняка кур в ответ на введение инактивированной ассоциированной вакцины против НБ, ИБК и ССЯ характеризуется тромбоцитозом, псевдозозинофилией, зозинофилией, увеличением общего количества зернистых лейкоцитов и лейкоэритробластического индекса. Выявлено, что экспериментальное заражение цыплят вирусом ИАЦ приводит к аплазии миелоидной ткани, что проявляется достоверным уменьшением количества клеток эритроцитарного и гранулоцитарного рядов, снижением лейкоэритробластического индекса, а также индексов созревания эозинофилов и псевдозозинофилов.

Литература. 1. Карпуть, И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных / И.М. Карпуть. – Минск : Ураджай, 1986. – 183 с. 2. Коленкин, С.М. Основные правила исследования пунктата костного мозга / С.М. Коленкин, А.И. Михеева // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – № 2. – С. 41–43. 3. Сапин, М.Р. Иммунная система человека / М.Р. Сапин, Л.Е. Этинген. – М. : Медицина, 1996. – 304 с. 4. Соколов, В.И. Цитология, гистология, эмбриология / В.И. Соколов, Е.И. Чумасов. – М. : «КолосС», 2004. – 351 с. 5. Способ подготовки костного мозга для гистологического исследования : заявка G 01N 33/48 Респ. Беларусь, МПК / В.С. Прудников, И.Н. Громов, И.Г. Никитенко ; заявитель УО ВГАВМ. – № а 20111638 ; заявл. 02.12.11 ; опубл. 30.08.12 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2012. – № 4. – С. 34. 6. Хрусталева, И.В. Иммунокомпетентные структуры млекопитающих и птиц новорожденного периода / И.В. Хрусталева, Б.В. Криштофорова, В.В. Лемещенко // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2007. – № 5. – С. 49-54.

Статья передана в печать 11.03.2015 г.

УДК 619:636.8:616.993.192.6ББ(477.52-21)

ИЗУЧЕНИЕ БАБЕЗИОЗА КОШЕК В Г. СУМЫ, УКРАИНА

*Решетило А. И., **Никифорова О. В., ***Кульшин В.Е., *Ясиновская О. Н.

*Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина,

**Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина,

***Харьковская медицинская академия последипломного образования, лаборатория «Вирола», г. Харьков, Украина

Бабезиоз кошек имеет тенденцию к распространению в г. Сумы, Украина. Болезнь характеризуется ярко выраженной сезонностью с максимальным пиком в мае, чаще болеют беспородные животные – 56,90%, возрастом от 6 мес. до 3 лет – 44,83%, коты, нежели кошки – 67,24 и 32,76%, соответственно. Полимеразная цепная реакция - более чувствительный метод диагностики бабезиоза кошек, чем микроскопия тонких мазков крови.

Cats' babesiosis is taking on dissemination in the city Sumy, Ukraine. Diseases is defended of strongly pronounced seasonality with maximal peak in May, pedigree less cats have been ailing more frequent – 56,9% at the age from 6 months to 3 years old - 44,83%, male cats have been ill more often than female – 67,24 and 32,76% respectively. Method PCR is more sensible method for babesiosis' diagnostic than blood film microscopic method.

Ключевые слова: бабезиоз, кошки, Трюпонил, Пиро-Стоп, лечение, ПЦР, микроскопия, Сумы, Украина.
Keywords: babesiosis, cats, Tryponil, Piro-Stop, treatment, PCR, microscopic, Sumy, Ukraine.

Введение. Бабезиоз – острое или хроническое облигатно-трансмиссивное, природно-очаговое, кровепаразитарное заболевание, вызываемое внутриклеточными простейшими, которые относятся к типу Арисомплекса семейству Babesiidae роду Babesia.

Характеризуется болезнь анемией, желтушностью слизистых оболочек, гемоглобинурией и лихорадкой постоянного типа. Иксодовые клещи играют важную роль в цикле развития бабезий, поскольку являются биологическими переносчиками этого возбудителя [2]. В северо-восточной части Украины вероятными переносчиками бабезий, паразитирующих у кошек, являются клещи, которые относятся к родам Ixodes, Dermacentor и Rhipicephalus.

Возбудитель бабезиоза кошек – *Babesia felis* – паразитирует в эритроцитах, сравнительно мелкий возбудитель. Размер – 1,5–2,8 мкм, форма – овальная сигароподобная, амебоподобная, шарообразная, иногда крестообразная. В одном эритроците может находиться от 1 до 4 возбудителей. Поражённость эритроцитов варьирует в пределах 0,3–4% и до 10%. Есть сообщения о заболевании домашних кошек бабезиозом, вызванного возбудителями *Babesia Leo* и *Babesia canis* [1].

Общеизвестная проблема и широкое распространение бабезиоза собак на территории Украины [3], также болеют лисы, енотовидные собаки, лошади, свиньи, рогатый скот, в то время как бабезиоз кошек – болезнь сравнительно малоизвестная и малоизученная как в мире, так и в Украине в частности.

Материалы и методы исследований. Целью нашей работы было выявление и изучение распространённости бабезиоза кошек в г. Сумы.

Исследования проводили с 2010 по 2014 год на базе частной клиники ветеринарной медицины «Ветсервис» г. Сумы, кафедре паразитологии Харьковской государственной зооветеринарной академии и лаборатории молекулярной диагностики и клеточных биотехнологий «Вирола» Харьковской медицинской академии последипломного образования (ХМАПО). Объектом исследования были клинически больные кошки разных пород и возрастных групп, с разными условиями содержания, кровь от больных животных, взятая из периферических сосудов.

Для исследований использовали следующие методы: эпизоотологический, статистический, клинический, микроскопический, молекулярно-генетический.

Микроскопические исследования проводили на базе частной клиники ветеринарной медицины «Ветсервис». Изготавливали тонкие мазки крови, взятой из периферических сосудов кошек. Мазки высушивали на воздухе, фиксировали в чистом этиловом спирте (96%) в течение 10 мин. Фиксированные мазки окрашивали методом Романовского, краской Гимза, проводили микроскопию окрашенных мазков с помощью светового микроскопа в иммерсионной системе, увеличение 7х40.

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили в лаборатории молекулярной диагностики и клеточных биотехнологий «Вирола» ХМАПО с применением специфических праймеров к роду *Babesia*.

Проводились исследования каждого образца крови от больных животных на выявление ДНК возбудителей рода *Babesia* [5]. Праймер и условия проведения ПЦР приведены в таблице 1. Кровь отбирали на фильтровальную бумагу, высушивали и хранили при +4°C. Для выделения специфической ДНК использовали набор для выделения ДНК из цельной крови "ДНК-ЭКСПРЕСС-кровь-плюс" производство ООО НПФ "Литех", Россия.

Таблица 1 - Праймер и условия проведения ПЦР на присутствие ДНК возбудителей рода *Babesia*

Название возбудителя	Местоположение гена	T° отжига	Размер продукта, пн
<i>Babesia</i> spp	18S rRNA	61	422-440

Окончательный диагноз ставили, учитывая клинические признаки и на основании обнаружения бабезий внутри эритроцитов при микроскопическом исследовании тонких мазков периферической крови, окрашенных по Романовскому, краской Гимзе, результатов эффективности средств этиотропной терапии и результатов исследований крови методом полимеразной цепной реакции.

Результаты исследований. В результате исследований было установлено, что бабезиоз кошек приобретает распространение в г. Сумы. Согласно данным регистрационных журналов клиники «Ветсервис», за период исследований выявлено 58 случаев бабезиоза кошек, а именно в 2010 году выявлены 2 кошки, больные бабезиозом, что составило 3,45%, в 2011 году – 14 кошек, в процентах 24,14, в 2012 году – 10 кошек – это 17,24%, в 2013 – 22 кошки (37,93%) и в 2014 году (за 5 мес) – 10 кошек, что составило 17,24% от общего количества выявленных случаев. До 2010 года регистрировались лишь единичные случаи бабезиоза кошек. Приведённые данные отображены на рисунке 1.

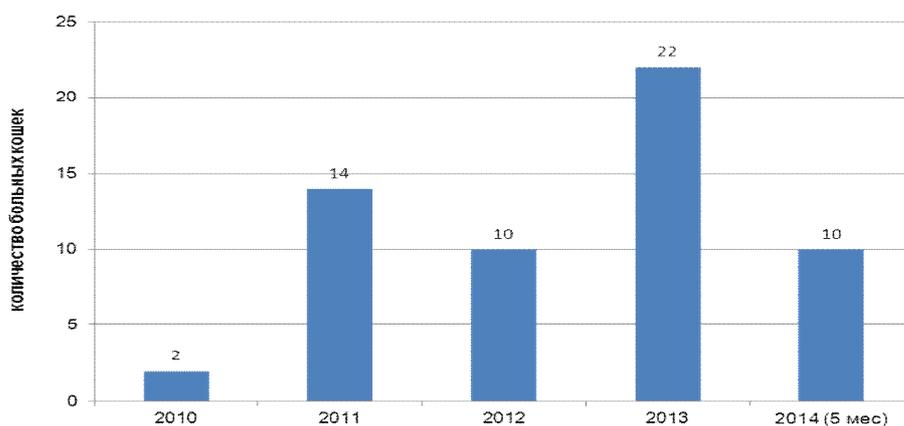


Рисунок 1- Количество выявленных кошек, больных бабезиозом в г. Сумы за 2010-2014 (5 мес.) гг.

На рисунке 1 видно, что количество больных животных изменяется от года к году и связано с активностью и циклом развития основных переносчиков возбудителя бабезиоза – иксодовых клещей, а также идет тенденция к увеличению случаев заболевания кошек бабезиозом.

Болели кошки разных пород и возрастных групп. Анализируя возрастную динамику при данном заболевании, нами выявлено, что в основном болезнь регистрировалась у животных в возрасте от 6 месяцев до 3 лет – 26 случаев, что составило 44,83% и в возрасте от 4 до 10 лет – 24 случая, что составило 41,38% от общего количества выявленных случаев. Данные возрастной динамики приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Возрастная динамика заболеваемости кошек на бабезиоз в г. Сумы в 2010-2014 гг.

№ п/п	Возраст кошек	Года										Всего за 2010-2014 гг., гол/%	
		2010		2011		2012		2013		2014 (5 мес)		Гол.	%
		Гол.	%	Гол.	%	Гол.	%	Гол.	%	Гол.	%		
1	6 мес-3 года	1	50,0	4	28,57	3	30,0	11	50,0	7	70,0	26	44,83
2	4-10 лет	1	50,0	8	57,14	6	60,0	6	27,27	3	30,0	24	41,38
3	Старше 10 лет	-	-	2	14,28	1	10,0	5	22,73	-	-	8	13,79
	Всего	2	100	14	100	10	100	22	100	10	100	58	100

Согласно таблице 2, тенденция возрастной динамики по годам сохраняется, кошки старше 10 лет болеют крайне редко, в наших исследованиях только в 2013 году выявлено 5 случаев заболевания, единичные случаи наблюдались в 2011 и 2012 годах, в то время как в 2010 и 2014 годах случаи заболевания кошек бабезиозом в данной возрастной группе отсутствовали.

Анализируя породную динамику заболеваемости кошек бабезиозом нами установлено, что чаще болели беспородные животные. Данные породной динамики показаны на рисунке 2.

Согласно рисунку 2, заболеваемость беспородных кошек из числа больных составила почти 57 % случаев, заболеваемость кошек сиамской породы составила 15,52%, очень редко болели кошки породы экзот и донской сфинкс – частота заболеваемости была одинаковой и составила чуть ниже 2 %. Также в равных частях встречалась заболеваемость кошек бабезиозом персидской и шотландской пород, частота заболеваемости составила более 8,5%, а кошки британской голубой породы болели почти в 7% случаев.

Такая картина заболеваемости объясняется тем, что беспородные кошки ведут более активный (домашне-выгульный) образ жизни в сравнении с породистыми домашними кошками, и поэтому встреча данных животных с переносчиками возбудителя бабезиоза – иксодовыми клещами более вероятна.

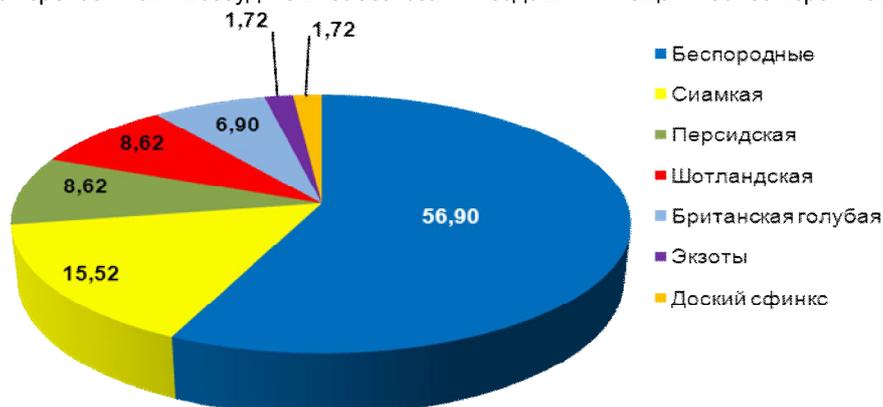


Рисунок 2 - Процентное соотношение заболеваемости кошек на бабезиоз в зависимости от породы за 2010-2014 (5 мес) гг.

Бабезиоз кошек чаще регистрировался у самцов, нежели самок – 67,24 и 32,76%, соответственно. Изучая сезонную динамику заболевания кошек на бабезиоз, установлено, что болезнь имеет выраженную сезонность (рисунок 3).

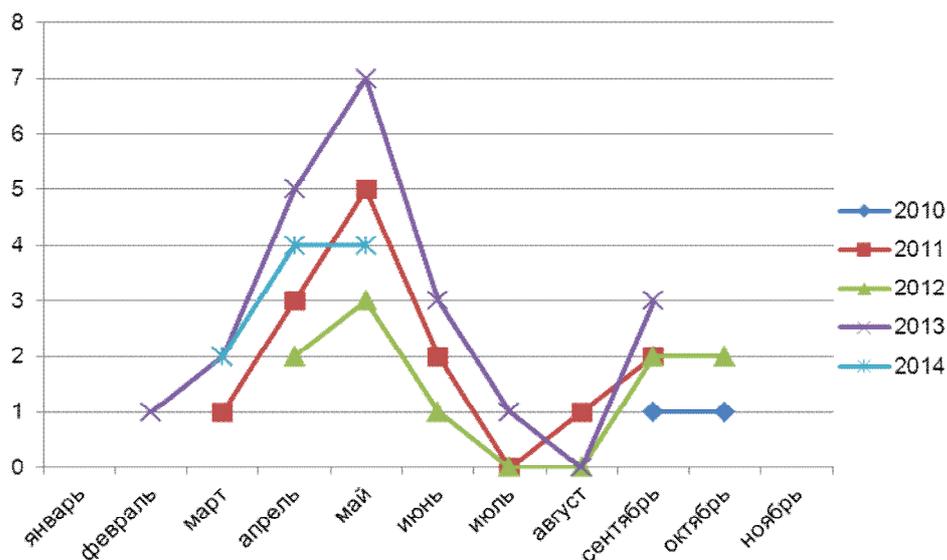


Рисунок 3 - Сезонная динамика заболеваемости кошек на бабезиоз в г. Сумы. В 2010-2014 (5 мес.) гг.

На рисунке 3 видно, что чаще болезнь регистрируется в весенний и осенний периоды года, с максимальным пиком в мае и незначительным подъемом в сентябре. Это связано с активностью иксодовых клещей и более активным образом жизни котов в эти периоды.

Согласно исследованиям, иксодовые клещи начинают свою активность с начала апреля при температуре окружающей среды +9°C с максимальным пиком численности иксодид в мае, в июне, когда среднесуточная температура окружающей среды составляет +18,7°C, также присутствует осенний сентябрьский пик активности иксодовых клещей. Хотя, в наших исследованиях мы обнаруживали клещей на животных в ноябре, иногда декабре и даже в феврале [4].

Поэтому сезонность заболеваемости кошек бабезиозом логично связать с сезонной активностью иксодовых клещей – биологических переносчиков возбудителей данного заболевания.

В наших исследованиях мы наблюдали острое, подострое и хроническое течение бабезиоза кошек (чаще подострое и хроническое). При этом острое течение бабезиоза у кошек характеризовалось повышенной температурой тела 39,8-41°C, анемией слизистых оболочек, тахикардией, у отдельных особей - желтушностью слизистых оболочек, гемоглобинурией, анорексией, слабостью. При подостром течении у больных наблюдали незначительное повышение температуры тела до 39,5-40°C, анемию слизистых оболочек, тахикардию, в отдельных случаях гемоглобинурию, желтушность слизистых оболочек, снижение аппетита или отказ от корма, вялость и малоподвижность животных. Хроническое течение бабезиоза характеризовалось выраженной анемией слизистых оболочек, быстрой утомляемостью, прогрессирующим исхуданием, снижением аппетита, вплоть до анорексии, температура тела, как правило, была в пределах физиологической нормы.

Диагностика бабезиоза кошек имеет некоторые трудности. При сборе анамнеза и клиническом осмотре кошек только в немногочисленных случаях обнаружены и удалены иксодовые клещи. Так как больные животные вели в основном выгульно-домашний образ жизни и отсутствовали дома по несколько дней, это могло привести к отпадению напившихся клещей во внешней среде.

Диагноз ставили на основании клинических признаков, микроскопических исследований тонких мазков крови из периферических сосудов и положительных результатов ПЦР. Обязательным было учет эффективности применения препаратов этиотропной терапии при лечении больных кошек.

При микроскопии тонких мазков крови из периферических сосудов, окрашенных методом Романовского краской Гимза, в эритроцитах обнаруживали бабезий различной формы и величины: овальной, сигаровидной, амёбовидной, шаровидной, в некоторых случаях грушевидной. Следует отметить, что интерпретация результатов микроскопии тонких мазков крови из периферической крови сложна тем, что необходимо дифференцировать бабезии от *Haemobartonella felis*, а также учитывать возможное наличие артефактов.

Для подтверждения диагноза на бабезиоз кошек, мы провели параллельные исследования проб крови от больных животных микроскопией тонких мазков крови и исследование проб методом ПЦР для обнаружения ДНК возбудителей рода *Babesia*. Положительные результаты ПЦР составили 80%, а микроскопия была положительной в 60% от общего количества исследованных проб, при этом достоверность метода микроскопии в сравнении с ПЦР составила 75%. Метод микроскопии тонких мазков крови не утратил своей актуальности, но, учитывая сложности дифференциации от других возбудителей, метод ПЦР является более точным и высоко чувствительным для диагностики бабезиоза.

Для лечения кошек, больных бабезиозом, применяли несколько препаратов этиотропной терапии. Для этого больных кошек условно разделили на две группы по 10 животных в каждой. Животным первой группы применяли диминазина ацетурат («Тгуропил», «Диминакель плюс») в дозе 1,5 - 3 мг/кг по АДВ внутримышечно, одно-двукратно с интервалом 24 ч. (в зависимости от состояния животного) параллельно со средствами симптоматической и патогенетической терапии. Животным второй группы применяли имидакарб дипропинат

(«Пиростоп») в дозе 1,2-2,5 мг/кг массы тела по АДВ, внутримышечно одно-двукратно с интервалом 24 часа (в зависимости от состояния животного) параллельно со средствами симптоматической и патогенетической терапии. В качестве этиотропной терапии при бабезиозе кошек препараты с действующим веществом диминазин ацетурат и имидакарб дипропинат оказались эффективными, 70 и 60 %, соответственно.

Заключение. Поскольку данное заболевание приобретает распространённость в последние годы, то возникает необходимость в определении и уточнении видового состава возбудителей, которые вызывают бабезиоз у кошек, а также выявлении вероятных переносчиков – иксодовых клещей, которые способствуют распространению и возникновению данного заболевания у кошек на территории северо-восточной части Украины. Все эти вопросы требуют дальнейшего тщательного изучения и более детальных исследований.

Выводы.

1. Бабезиоз кошек приобретает распространённость в г. Сумы. Болеют чаще беспородные животные (56,9%) в возрасте от 6 мес. до 3 лет (44,83%), коты чаще кошек (67, 24%).

2. Заболеваемость характеризуется ярко выраженной сезонностью с максимальным пиком в мае и незначительным подъемом в сентябре, что совпадает с сезонной активностью иксодовых клещей.

3. У кошек бабезиоз чаще протекает с подострым и хроническим течением.

4. Метод ПЦР для диагностики бабезиоза кошек более чувствительный в сравнении с методом микроскопии тонких мазков крови. При этом достоверность микроскопии в сравнении с ПЦР составила 75%.

Литература. 1. Changkija, Bendangla, Varshney J.P. Babesiosis in a domestic kitten - A clinical report // *Journal of Veterinary Parasitology*, 2006, V. 20, Issue 1. – P. 3-9. 2. Приходько Ю.А. Иксодовые клещи (Acarina:Ixodidae) – носители и переносчики возбудителей в северо-восточной части Украины / Ю.А. Приходько, О.В. Ницифорова, В.А. Наглов // *Материалы IV Всероссийского съезда Паразитологического общества, (Санкт-Петербург 20-25 октября 2008 г.): «Паразитология в XXI веке: проблемы, методы, решения»*. Т. 3. – Санкт-Петербург: «Лемма», 2008. – С. 48-53. 3. Прус М. П. Бабезиоз собак (эпизоотология, патогенез та заходи боротьби) [Текст] : автореф. дис. ... доктора ветеринарних наук ; 16.00.11 «Паразитологія, гельмінтологія» / М. П. Прус ; НАУ. – К., 2006. – 39 с. 4. Нікіфорова О В. Видовий склад, розповсюдження і заходи боротьби з іксодовими кліщами (Ixodidae) у Харківській області. Автореф. на здобуття наукового ступеня к.в.н. Харків - 2007, 21 с. 5. Heidi Hilpertshauser, Peter Deplazes, Manuela Schnyder, Lise Gern, Alexander Mathis. Babesia spp. Identified by PCR in Ticks Collected from Domestic and Wild Ruminants in Southern Switzerland // *Applied and Environmental Microbiology*, Oct. 2006, - Vol. 72, No. 10. - p. 6503-6507.

Статья передана в печать 21.04.2015 г.

УДК 619:614.3(476)

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СИСТЕМЫ КОНТРОЛЯ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

*Русинович А.А., **Мотузко С.Н.

*ГУ «Белгосветцентр», г. Минск, Республика Беларусь,

**ОАО «Глубокский мясокомбинат», г. Глубокое, Республика Беларусь

В стране необходимо создание компетентного органа по осуществлению контрольной/надзорной деятельности в области здоровья продуктивных животных, безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения. В целях обеспечения государственного лабораторного контроля показателей безопасности продовольствия в стране должны быть одна государственная программа, отвечающая требованиям национального законодательства, при необходимости международных сообществ (ЕС, ТС) и стран торговых партнеров.

The country is necessary to establish the competent authority for the implementation of control-term / supervisory activities in the field of health food-producing animals, food governmental security raw materials and foodstuffs of animal origin. In order to provide station of laboratory monitoring indicators of food security in the country must be a state program that meets the requirements of national legislation, if necessary, the international community (EU, TC) and of trading partners.

Ключевые слова: безопасность пищевой продукции, Технический регламент Таможенного союза, Ветеринарно-санитарные правила, надзор, качество, лабораторный контроль, сырье.

Keywords: food safety, technical regulations of the Customs Union, animal health rules, supervision, quality control laboratory, raw.

Введение. Агропромышленный комплекс Республики Беларусь с 2010 года постоянно наращивает объемы производства продукции животного происхождения и, как следствие, увеличивает ее экспорт.

Программой социально-экономического развития Республики Беларусь на 2011–2015 годы, утвержденной Указом Президента Республики Беларусь от 11 апреля 2011 года № 136, предусмотрено увеличение производства сельскохозяйственной продукции на 39–45 процентов и доведение ее экспорта до уровня не ниже 7,2 млрд. долларов США. Имеющиеся предположения свидетельствуют, что этот показатель при соблюдении определенных условий может быть даже перевыполнен.

Аналогичные тенденции имеют место в развитых и развивающихся странах: США, Канада, ряда стран ЕС, Бразилия, Аргентина, Китай и др. [1].

В таких условиях обостряется конкурентная борьба за внешние рынки и преимущества получают те, кто торгует более качественной и безопасной продукцией, причем безопасность продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения занимает ключевое место в этом направлении. События последних 5 лет, создавшие биологические (пандемии птичьего гриппа, африканской чумы свиней, почечно-гемолитический синдром, обусловленный высокопатогенным штаммом кишечной палочки и др.) и химические (молочная продукция с меламином, свинина с диоксином и др.) инциденты, свидетельствуют тому [8].

В связи с этим рекомендациями международных организаций (Кодекс алиментарииус, МЭБ, ВОЗ, ФАО), законодательством международных сообществ (ЕС) предусматривается совершенствование мероприятий по государственному контролю безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения по принципу «от поля до стола» с гарантированной системой прослеживаемости [6, 7].

Республика Беларусь не должна быть исключением из этих мировых тенденций. У нас внутренние потребности в продовольствии значительно ниже, чем его производство. Этому способствуют и природно-географические условия, что обуславливает экспортную ориентацию Республики Беларусь.

Материалы и методы исследований. В работе использованы данные законодательства Республики Беларусь, учетно-отчетной документации по ветеринарному делу, результаты ветеринарных инспекторских проверок мясо-, молоко-, птице- и рыбоперерабатывающих предприятий стран торговых партнеров Республики Беларусь, проведенных отечественными ветеринарными инспекторами и с участием авторов статьи за период с 2002 года по настоящее время, инспекторами Генерального Директората по защите здоровья потребителей Европейской Комиссии в 2003, 2009, 2010 и 2014 годах и ветеринарными инспекторами Российской Федерации в 2007 – 2014 годах предприятий Республики Беларусь, а также нормативные документы и рекомендации международных сообществ и организаций.

Авторами для подготовки статьи также использованы материалы, полученные при участии:

- в программах международного сотрудничества по проекту Международной финансовой корпорации «Безопасность пищевой продукции в Республике Беларусь», проекту Международной технической помощи Евросоюза «Поддержка системы обеспечения качества в Республике Беларусь – безопасности пищевой продукции»;

- в работе рабочих групп при разработке Технических регламентов Таможенного союза по безопасности масложировой продукции, молока и молочной продукции и по формированию единых подходов при осуществлении ветеринарного лабораторного контроля в рамках Таможенного союза;

- в инспектировании деятельности компетентных служб и предприятий по производству продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения стран торговых партнеров.

Результаты исследований. Законами Республики Беларусь определены основные органы государственного управления, осуществляющие контроль/надзор за безопасностью продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения, в частности Минсельхозпрода, Минздрава и Госстандарта и полномочия по их деятельности [2, 3, 4, 5].

В развитии этих законов разработаны подзаконные нормативные правовые акты (далее – НПА) и технические нормативные правовые акты (далее – ТНПА), которые устанавливают порядок действий контрольно/надзорных служб (постановления Совета Министров Республики Беларусь), показатели и условия выращивания здоровых животных, производства безопасного продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения, максимально допустимые уровни (далее – МДУ) вредных факторов в пищевых продуктах (соответствующие Ветеринарно-санитарные правила, Санитарные нормы и правила с последующим внесением этих показателей в Госты). Следует отметить, что установленные службами Минсельхозпрода, Минздрава и Госстандарта в НПА и ТНПА полномочия, нормы, правила, стандарты в большинстве своем дублируются, а иногда и противоречат один другому, тем самым вводят в заблуждение операторов рынка продовольственного сырья и пищевых продуктов.

Кроме этого, частью полномочий Госстандарта является регистрация и официальное издание Гостов (кроме государственных стандартов в области архитектуры и строительства), а также ведение Национального фонда ТНПА в области технического нормирования и стандартизации.

Воспроизведение, тиражирование и распространение в качестве официального издания допускается только с разрешения Госстандарта, который делегировал это право НПРУП «Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС).

Приобретение заинтересованными в БелГИССе Гостов осуществляется на платной основе, что приводит к необоснованным затратам хозяйствующих субъектов, тем самым снижается конкурентоспособность их продукции на рынке.

Вместе с тем в Национальном правовом Интернет-портале Республики Беларусь является доступной любая информация по нормативным правовым актам и ряду ТНПА на бесплатной основе.

Аналогичная ситуация по бесплатному пользованию посредством интернета возможна и с международными стандартами.

Распространение БелГИССом всех видов Гостов (ТНПА) на платной основе, а также дублирование норм и правил производства продовольственного сырья и пищевых продуктов в Республике Беларусь посредством Гостов, по нашему мнению, является не обоснованным.

По запросу Минсельхозпрода в Министерство юстиции Республики Беларусь о правовой оценке этой ситуации получен ответ (исх. Минюста от 01.12.2014 № 05-2-10/3433) следующего содержания: «... считаем возможным поддержать позицию Министерства сельского хозяйства и продовольствия о неприемлемости дублирования правил производства продовольственного сырья и пищевых продуктов в Республике Беларусь в различных технических нормативных правовых актах; необходимости размещения на Национальном правовом Интернет-портале текстов технических нормативных правовых актов, в том числе государственных стандартов, на бесплатной основе и обусловленную этим корректировку законодательства».

Частое принятие НПА или внесение дополнений и изменений в основные Законы и Указы Президента Республики Беларусь также не способствуют эффективной работе по этому направлению деятельности.

Только за период с 2009 года по настоящее время издано 7 Указов Президента Республики Беларусь относительно контрольно-надзорной деятельности, в том числе по государственной ветеринарной службе.

Неоднократно вносились изменения в Закон Республики Беларусь «О качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов для жизни и здоровья человека» (Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь, 2003 г., № 79, 2/966; 2004 г., № 111, 2/1051; 2007 г., № 170, 2/1344; 2008 г., № 133, 2/1440).

Последнее изменение, внесенное Законом Республики Беларусь от 4 января 2014 г. № 130-З «О внесении изменений и дополнений в некоторые законы Республики Беларусь» (Статья 10.), по нашему мнению, вообще не приемлемо. В частности:

- «Надзор в области обеспечения качества продовольственного сырья и пищевых продуктов осуществляется Департаментом ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, ...».

- «Надзор за обеспечением безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов при их производстве и обороте, а также материалов и изделий в соответствии с требованиями законодательства Республики Беларусь в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения является частью государственного санитарного надзора...».

- «Надзор за соответствием качества и безопасности продовольственного сырья, пищевых продуктов, материалов и изделий обязательным для соблюдения требованиям технических нормативных правовых актов в области технического нормирования и стандартизации является частью надзора за соблюдением обязательных для соблюдения требований технических нормативных правовых актов в области технического нормирования и стандартизации и осуществляется органами государственного надзора за соблюдением требований технических регламентов и стандартов, определенными Советом Министров Республики Беларусь ...».

Кроме этих 3 структур, далее в Законе перечислены Минторг и Комитет госконтроля, которые также принимают участие в контроле качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов.

О несовершенстве нашей национальной системы контроля/надзора за качеством и безопасностью продовольственного сырья, пищевых продуктов указывалось инспекторами Генерального директората и защиты потребителей Европейской Комиссии (2003 – 2014 годы), ветеринарными инспекторами Россельхознадзора, Украины. Ими было предложено создать в стране т.н. Компетентный орган, который обеспечивал бы контроль/надзор и отвечал бы за его результаты.

Последняя инспекция Россельхознадзора показала, что основным звеном действующей в Республике Беларусь системы контроля/надзора является государственная ветеринарная служба, которая должна, по их мнению, обеспечивать сертификацию продовольственного сырья и пищевых продуктов относительно показателей безопасности. Службы Минздрава и Госстандарта к работе миссии инспекторов Россельхознадзора имели лишь косвенное отношение, более того, в заключительном отчете Россельхознадзора их деятельность почти не отмечалась. Хотя ранее указанное дополнение в Закон свидетельствует об их главенствующей роли.

Проект постановления Совета Министров Республики Беларусь о т.н. Компетентном органе Минсельхозпрода был подготовлен еще в 2009 году. В указанном документе были определены направления деятельности, порядок действий и взаимодействия между контрольно/надзорными службами Минсельхозпрода, Минздрава и Госстандарта. Однако до настоящего времени этот документ остается проектом.

Лабораторный контроль. В настоящее время проблема лабораторного контроля становится все более актуальной. Связано это с тем, что такие заразные болезни, как ящур, птичий грипп, африканская чума свиней и др., в эпизоотической цепи которых животные и продукция животного происхождения являются основными звеньями, имеют тенденцию к распространению. Их появление приводит к огромным экономическим потерям, а зачастую ставит под угрозу здоровье людей и развитие животноводческой отрасли.

Применение в животноводстве различного рода добавок, гормональных препаратов, лекарственных веществ без должного контроля и соблюдения сроков их выведения из организма животных, других химических соединений, значительная экологическая нагрузка через т.н. химические загрязнители (хлор-, фосфор-органические соединения и др.) обуславливают возникновение серьезных инцидентов на продовольственном рынке.

Создание эффективной системы лабораторного контроля качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения имеет не только социальную значимость. Решение этой задачи необходимо и для дальнейшего усиления экспортного потенциала отраслей АПК, повышения эффективности реализации соответствующей продукции на внешнем рынке, объемы которой в последние годы неуклонно возрастают.

Среди основных направлений решения данной проблемы следует выделить обеспечение безопасности сырья и добавок, используемых для их производства, соответствующие гигиена и технологии производства, а также система контроля санитарно-гигиенических условий, технологии производства, показателей качества и безопасности сырья, вспомогательных материалов и готовой продукции по принципу «от поля до стола».

В Республике Беларусь лабораторный контроль продовольственного сырья и пищевых продуктов осуществляют испытательные лаборатории Минздрава, Минсельхозпрода, Госстандарта, Минторга, НАН Беларуси, концерна «Белгоспищепром», Белкоопсоюза, а также организаций по их производству и переработке. Всего по этому направлению деятельности задействовано более 3000 испытательных лабораторий. Причем испытательные лаборатории Минздрава, Минсельхозпрода, Госстандарта осуществляют государственный лабораторный контроль по программам в рамках своей ведомственной деятельности без общей государственной координации и направленности. Исключение составляет проведение государственного лабораторного контроля по программе, разработанной во исполнение постановления Совета Министров

Республики Беларусь «О совершенствовании системы контроля за содержанием вредных веществ в живых животных и продукции животного происхождения» от 15.12.2003 г. № 1628.

Также существенным отличием государственного лабораторного контроля показателей безопасности испытательными лабораториями перечисленных ведомств от международной практики является определение нормируемых химических показателей безопасности как в сырье, так и готовой продукции. При этом действующая система лабораторного контроля импортируемой продукции животного происхождения включает лишь показатели, которые должны контролироваться только по национальным нормативным документам, без учета показателей стран экспортеров.

Следует отметить, что в большинстве стран мира лабораторный контроль показателей безопасности осуществляется в сырье. Совершенство такой системы контроля у нас в стране оправдано реализацией продукции животного происхождения через рыночную торговлю. Посредством наличия ветеринарных сопроводительных документов, свидетельствующих об эпизоотическом благополучии местности и состоянии здоровья животных и результатами последующей ветеринарно-санитарной экспертизы, гарантируется безопасность реализуемых на рынках молока и молокопродуктов (сметана, творог, масло), мяса, яиц. Такая практика успешно существует десятилетия.

Как показывает мировой опыт, нецелесообразно и экономически неэффективно определять многие вредные химические соединения как в сырье, так и в готовой продукции, так как отсутствие их в сырье уже является гарантией их отсутствия в готовой продукции.

Как следствие проводимых в стране мероприятий по устранению последствий аварии на ЧАЭС, обеспечено значительное снижение радиационной нагрузки на аграрную отрасль, в том числе и на производимое сырье и готовую продукцию, что свидетельствует о необходимости корректировки системы радиационного контроля, особенно для производителей продукции, расположенных в т.н. «чистых зонах».

Согласно законодательству в основу периодичности лабораторного контроля показателей безопасности положен временной интервал отбора проб от нескольких дней до нескольких месяцев (в зависимости от показателя контроля), причем без учета объемов производимого продовольственного сырья или пищевых продуктов. Исключением в этом направлении является отбор проб по ранее указанной программе, разработанной во исполнение постановления Совета Министров Республики Беларусь «О совершенствовании системы контроля за содержанием вредных веществ в живых животных и продукции животного происхождения» от 15.12.2003 г. № 1628. Отбор количества проб для лабораторного контроля по программе осуществляется не по временному интервалу, а в зависимости от объемов производимого продовольственного сырья и пищевых продуктов. Например, отбирается одна испытываемая проба молока от 15 тыс. тонн произведенного на фермах молока или 1 проба мяса говядины - от 0,4% забитого на мясоперерабатывающих предприятиях крупного рогатого скота и т.д. по мясу других видов животных, рыбе, яйцу, меду. При этом частота отбора проб (периодичность) проводится в зависимости от степени рисков и определяется компетентным органом, независимо от производителей.

Необходимым является и расширение номенклатуры контролируемых показателей в соответствии с мировой практикой и стран - импортеров отечественной продукции. В систему лабораторного контроля должны включаться запрещенные вещества, а также вещества, остатки которых в организме продуктивных животных, продовольственном сырье и пищевых продуктах могут оказывать вредное воздействие на организм человека (ветеринарные препараты, хлор-, фосфорорганические соединения, тяжелые металлы и др.), наличие которых имеет место в стране, или они могут поступать с импортируемой продукцией (последний пример с рактопамином). Допустимые уровни этих веществ должны как минимум соответствовать рекомендациям международных организаций (Кодекс Алиментариус, МЭБ, ВОЗ, ФАО), законодательству международных сообществ (ЕС, ТС).

Обстоятельством доверия к деятельности испытательных лабораторий, а вместе с тем и к безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов, особенно при экспорте, является качество и достоверность проводимых ими испытаний, которое обеспечивается соответствующим техническим, методическим, кадровым, финансовым оснащением лабораторий. Критерием качества работы испытательных лабораторий должны служить межлабораторные сличительные исследования и взаимное признание их результатов на наднациональном уровне. К сожалению, ввиду отсутствия в стране единой методической основы, это направление в республике не имеет системной направленности. Испытательные лаборатории, по своему усмотрению, в одностороннем порядке заключают договора для участия в международных сличительных исследованиях.

Нуждается в совершенствовании национальная система оценки соответствия испытательных лабораторий требованиям ТНПА (аккредитация). В стране отсутствует национальный лабораторный центр, который мог бы совместно с ГП «Белорусский государственный центр аккредитации» не только оценивать деятельность испытательных лабораторий требованиям ТНПА на современном уровне, но и выполнять контрольно-методические функции.

Особенно актуальна данная проблема при разрешении споров в отношении результатов контроля качества и безопасности продукции при экспортно-импортных операциях. Последние инциденты в торговле с Российской Федерацией – подтверждение тому.

В настоящее время активно разрабатывается и формируется законодательство по обеспечению безбарьерной торговли продовольственными товарами на пространстве Таможенного союза и Евразийского экономического сообщества, в том числе и по лабораторному контролю. Предусматривается создание трех уровней системы лабораторий:

- официальные научно-лабораторные центры Евразийского экономического союза;
- лаборатории (центры) I уровня государств-членов Евразийского экономического союза;
- лаборатории II уровня государств-членов Евразийского экономического союза;

Наиболее эффективно организована деятельность испытательных лабораторий, в том числе национальных лабораторных центров в Европейском союзе. В частности, в странах Европейского Союза для осуществления лабораторной деятельности создана трехуровневая система лабораторий:

- наднациональные лаборатории (13 лабораторий сообщества);
- центральные национальные лаборатории (в зависимости от специализации и возможностей - от 1 до нескольких в стране);
- региональные лаборатории.

Значительное внимание совершенствованию лабораторной деятельности придается в Российской Федерации. Постановлением Правительства РФ от 27.10.2008 года № 791 принята программа «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009 – 2013 год)» с продлением ее выполнения до 2015 года. Программой предусмотрено строительство и реконструкция 211 объектов и организаций, а также повышение их готовности и оснащение новыми сенсорными и плазменно-оптическими системами оперативного обнаружения и обезвреживания, современным оборудованием и расходными материалами. Выполнение Программы позволит вывести деятельность лабораторий РФ на качественно новый уровень.

В Республике Беларусь требует дальнейшего развития научное сопровождение лабораторного дела и подготовка специалистов по его осуществлению. В стране отсутствует научно обоснованная система мониторинга производства безопасных продовольственного сырья и пищевых продуктов (наблюдению, анализу и прогнозу), особенно по т.н. вредным веществам. Широкое применение в кормопроизводстве различных средств защиты растений, значительная экологическая нагрузка и ряд других факторов требуют проведения научных исследований по исключению их вредного влияния на пищевые продукты.

Действующая в стране система подготовки специалистов для АПК почему-то не предусматривает специализированную их подготовку для испытательных лабораторий. К примеру, во многих лабораториях в качестве химиков-аналитиков, микробиологов, радиологов зачастую работают специалисты, имеющие образование в области экономики, товароведения, технологии сельскохозяйственного производства и др. Для их переподготовки при различных образовательных учреждениях используется недельная или 2-х недельная лекционно-экскурсионная форма обучения при полном отсутствии практических занятий. К примеру, ГУО «Институт кадры индустрии» Министерства промышленности почему-то регулярно проводит платную недельную подготовку специалистов предприятий АПК по лабораторному контролю безопасности продовольствия по ранее указанной форме обучения. Собственной лабораторно-практической базы учреждения не имеет. По нашему мнению, это просто зарабатывание средств за счет АПК.

Лишь с 2011 года на биологическом факультете Белорусского государственного университета начали осуществлять подготовку специалистов микробиологов по прикладной лабораторной пищевой микробиологии. Аналогичное направление образовательной деятельности необходимо осуществлять и по подготовке химиков-аналитиков.

Требуется совершенствования ведомственный лабораторный контроль.

В развитых странах его осуществляют по нескольким направлениям, в частности:

- производителями продовольственного сырья и пищевых продуктов в рамках производственного контроля по программе HACCP;
- отраслевыми организациями по т.н. географическому названию (отраслевые организации, владеющие правом производства определенных видов продукции);
- торговыми сетями при сертификации и последующих аудитах условий производств пищевых продуктов;
- по инициативе потребителей.

Производственный контроль на предприятиях Республики Беларусь осуществляется в соответствии с:

- программами производственного контроля, разработанными во исполнение требований Санитарных правил 1.1.8-24-2003 «Организация и проведение производственного контроля за соблюдением санитарных правил и выполнением санитарно-противоэпидемических и профилактических мероприятий»;
- системой анализа рисков и контрольных критических точек по СТБ 14070 или 22000, или по обоим вместе!!! В большинстве случаев, как свидетельствует практика, системы анализа рисков и контрольных критических точек, по ранее указанным СТБ, реализуются на предприятиях формально!

Производственный контроль, по нашему мнению, должен проводиться на основе системы анализа рисков и контрольных критических точек только по одному из ранее указанных стандартов, причем элементы программы производственного, в том числе лабораторного контроля, должны быть лишь частью системы анализа рисков и контрольных критических точек.

Заключение. 1. В стране необходимо создание компетентного органа по осуществлению контрольной/надзорной деятельности в области здоровья продуктивных животных, безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения. Одним из примеров может служить деятельность такой службы в Литве, Латвии, Эстонии (Государственная ветеринарная и продовольственная служба).

2. В целях обеспечения государственного лабораторного контроля показателей безопасности продовольствия в стране должны быть одна государственная программа, отвечающая требованиям национального законодательства, при необходимости международных сообществ (ЕС, ТС) и стран торговых партнеров, по показателям:

- состояния здоровья животных (компетенция ветеринарной службы);
- условий производства и показателей безопасности продовольственного сырья (компетенция ветеринарной и санитарно-эпидемической служб).

В показатели химической безопасности должны быть включены все вредные вещества, наличие которых имеет место на территории страны, а также в странах, из которых импортируется продукция.

В показатели микробиологической безопасности включают показатели в соответствии рекомендаций международных организаций и законодательства международных сообществ (ЕС, ТС), а при необходимости и стран торговых партнеров (к примеру, во Франции дополнительно введен контроль клостридий в молоке и молочных продуктах, которого нет в законодательстве ЕС).

Количество проб для лабораторного контроля показателей химической безопасности должно определяться в зависимости от объемов производства продовольственного сырья, а отбор проб проводится в сроки, определяемые компетентным органом, независимо от производителей (пример: - Директива Совета 96/23/ЕС от 29 апреля 1996 г. по мерам по контролю за определенными веществами и их остатками в животных и продуктах животного происхождения).

Порядок и периодичность контроля микробиологических показателей продовольственного сырья и пищевых продуктов целесообразно проводить по Регламенту Комиссии (ЕС) № 2073/2005 от 15 ноября 2005 года «О микробиологических показателях для пищевых продуктов», с учетом национальных и производственных особенностей.

2.1. Для реализации программы должны быть определены соответствующие испытательные лаборатории Минсельхозпрода и Минздрава, аккредитованные на право проведения лабораторных испытаний.

3. В стране необходимо принятие НПА по системе государственного лабораторного контроля, которым будет оптимизирована лабораторная деятельность, определены полномочия и порядок действий испытательных лабораторий Минсельхозпрода и Минздрава, порядок осуществления референтных функций в системе ветеринарных и санитарно-эпидемиологических лабораторий.

3.1. Ветеринарные лаборатории должны осуществлять лабораторный контроль условий выращивания животных, состояния здоровья животных, производства безопасных продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения.

3.2. Лаборатории санитарно-эпидемиологической службы должны осуществлять лабораторный контроль санитарно-эпидемиологических показателей условий производства безопасных продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения, а также в случае необходимости – показателей безопасности пищевых продуктов.

Причем деятельность лабораторий обоих ведомств не должна дублироваться, т.е. их полномочия и направления деятельности должны быть разграничены требованиями НПА.

4. Необходимо:

- пересмотреть и определить методологию проведения сличительных исследований испытательных лабораторий на национальном и наднациональном уровне;
- проведение консультативно-методической работы центральными лабораториями с лабораториями нижестоящего уровня;
- создание системы мониторинга, научного обеспечения и подготовки кадров для испытательных лабораторий;
- обеспечить современное методическое, техническое оснащение испытательных лабораторий.

5. Первоначальным является создание рабочей группы из числа специалистов заинтересованных ведомств по изучению действующей в стране системы лабораторного контроля безопасности продовольствия с целью разработки конкретного комплекса мероприятий по его совершенствованию в соответствии с общепринятой международной практикой.

Литература. 1. Мелешня, А.В. Закономерности развития отечественного и мирового рынков молока в условиях расширения международных торгово-экономических связей. Выбор стратегии укрепления позиции молочной индустрии Республики Беларусь / А.В. Мелешня, М.Л. Климова. - Минск. - 2012. - С. 5–14. 2. Закон Республики Беларусь «О ветеринарной деятельности» от 2 июля 2010 г. № 161-З. 3. Закон Республики Беларусь «О качестве и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов для жизни и здоровья человека» от 4 января 2014 г. № 130-З. 4. Закон Республики Беларусь «О техническом нормировании и стандартизации» (от 5 января 2004 г. № 262-З). 5. Закон «Об оценке соответствия требованиям технических нормативных правовых актов в области технического нормирования и стандартизации» от 5 января 2004 г. № 269-З. 6. Регламент (ЕС) № 882/2004 Европейского Парламента и Совета от 29 апреля 2004 года об официальном контроле, осуществляемом для гарантии соответствия продукции продовольственному праву и правилам хорошего содержания животных. 7. Регламент (ЕС) (ЕС) № 852/2004 Европейского Парламента и Совета от 29 апреля 2004 года о гигиене пищевых продуктов. 8. Рушинович, А.А. Проблемы контроля безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов животного происхождения / А.А. Рушинович // Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья: сборник научных трудов, РУП «Институт мясо-молочной промышленности. – Вып. № 7. – Минск. – 2013. - С. 24–37.

Статья передана в печать 08.04.2015 г.

УДК 619:616.995.122.21:636

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ФАСЦИОЛЕЗА ДОЙНЫХ КОРОВ

Ятусевич А.И., Дубина И.Н., Братушкина Е.Л., Захарченко И.П., Вербицкая Л.А.

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

Проведены исследования по оценке эффективности ИФА сыворотки крови и молока при диагностике фасциоза крупного рогатого скота. Чувствительность метода составляет 100 %, при использовании традиционных методов (последовательных промываний, Вишняускаса) – 70-88 %. Рекомендуются широкое использование ИФА в практике, что значительно облегчит труд специалистов.

Conducted research to assess the effectiveness of ELISA of serum and milk in the diagnosis of human fasciolosis in cattle. The method sensitivity is 100 %, when using traditional methods (sequential washes, Vishnjauskas) - 70-88 %. It is recommended that the widespread use of ELISA in practice that will greatly facilitate the work of specialists.

Ключевые слова: фасциолез, крупный рогатый скот, фекалии, иммуноферментный анализ, диагностическая система, животные, иммунные реакции, иммуноглобулины, антитела, серологические методы диагностики.

Keywords: fasciolosis, cattle, feces, ELISA, diagnostic system, animals, immune response, immunoglobulins, antibodies, serological methods of diagnosis.

Введение. Животноводство является ведущей отраслью сельскохозяйственного производства Республики Беларусь. От использования его производственных потенциалов во многом зависит экономика сельского хозяйства и государства в целом. Производимое животноводством продовольствие – это важнейший фактор жизнеобеспечения, без которого невозможна нормальная жизнедеятельность каждого человека, а значит общества и государства. Одним из резервов повышения продуктивности животных является своевременное выявление и лечение инвазионных заболеваний.

По данным многолетних мониторинговых исследований, на территории Республики Беларусь у крупного рогатого скота установлено паразитирование 36 видов гельминтов, при этом в паразитарной системе одно из основных мест занимает фасциолез. По данным отечественных исследователей, интенсивность фасциолезной инвазии в среднем по республике составляет 54,2% [3]. Анализ инвазированности крупного рогатого скота в различных регионах республики свидетельствует, что наибольшую проблему фасциолез представляет среди взрослого скота, у которого экстенсивность инвазии доходит до 55,2% [1, 4].

Гидрография территории Республики Беларусь характеризуется густой системой рек, крупных и мелких озер, болот, что вместе с большим количеством выпадающих осадков, обеспечивающих обильное увлажнение почвы, и способствует образованию низменных, увлажненных лугов, пойменных пастбищ с хорошим произрастанием кормовых трав. Эти же условия способствуют широкому распространению промежуточного хозяина *Fasciola hepatica* – моллюсков семейства *Limnaeidae*. Тем самым, на территории республики созданы условия для активного развития биологического цикла фасциолы. Однако клинической формы фасциолеза в отчетах ветеринарной службы республики не фигурирует, что мы связываем с несовершенством системы диагностики, широко применяемой в республике.

Интенсификации современного животноводства, беспривязное содержания животных в секциях по 20-50 голов, использование для доения молочных залов, внедрение роботизированных систем получения молока затрудняют отбор диагностического материала. Пробы фекалий практически невозможно идентифицировать, проводить отбор фекалий из прямой кишки, также как и процедура взятия крови, требует прогона животных через санитарные станки, что создает стрессовую ситуацию и требует большой затраты времени. Возникает потребность в совершенствовании диагностических мероприятий, в том числе и диагностике гельминтозов.

Повышение требований к качеству получаемой животноводческой продукции требует разработки современных подходов в лечении и профилактики гельминтозов животных. Поголовная обработка лактирующих коров в настоящее время является неприемлемой, поскольку используемые препараты не только способствуют гибели паразитов, но в большинстве своем достаточно длительно выводятся с молоком, что в период ожидания делает невозможным использование молока для изготовления продуктов питания.

Также необходимо учитывать и экономическую целесообразность поголовной обработки животных. Высокая стоимость антгельминтиков в условиях высокой концентрации поголовья, для поголовной обработки животных требует больших финансовых затрат. Экономически целесообразнее проводить обследование поголовья, выявлять конкретных инвазированных животных и осуществлять индивидуальную дачу лекарственных препаратов.

Таким образом, современные условия ведения животноводства требуют разработки и внедрения высокоэффективных методов диагностики гельминтозов, не требующих больших затрат физического труда, способствующих выполнению высоких экологических и санитарных требований при проведении анализов.

Целью настоящей работы являлась оценка чувствительности, специфичности и воспроизводимости методом иммуноферментного анализа (ИФА) диагностики фасциолеза у крупного рогатого скота по исследованию молока.

Материалы и методы исследований. Одно из хозяйств Витебской области, традиционно неблагополучное по фасциолезу, было выбрано нами в качестве опытной базы для проведения гельминтологической диспансеризации дойного поголовья коров.

От всех коров были отобраны фекалии. Отбор фекалий осуществляли из прямой кишки животного, или сразу после дефекации из разных участков в объеме около 50 г. Фекалии помещали в чистую, сухую, пластмассовую посуду с крышкой. На пробах проставляли номера животных, дату и время отбора материала.

Фекалии доставлялись в лабораторию кафедры паразитологии и инвазионных болезней УО «Витебская орден «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», где выполнялось исследование в день отбора.

Исследование проб фекалий осуществляли методом последовательных промываний и методом Вишняускаса.

Проведенная диспансеризация позволила сформировать группу животных, заведомо инвазированных фасциолезом, и группу условно здоровых животных. Также была сформирована группа из коров, подвергнутых дегельминтизации за 60 дней до проведения исследований. В каждую группу вошло по 50 животных.

От трех групп животных были отобраны пробы молока и подвергнуты исследованию методом иммуноферментного анализа с целью обнаружения антител к возбудителю фасциолеза – *Fasciola hepatica*.

Иммуноферментный анализ осуществляли с помощью диагностической системы IDEXX.

Постановка иммуноферментного анализа проводилась в лаборатории ИФА и ПЦР- исследования отдела научно-исследовательских экспертиз научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО ВГАВМ. Отдел научно-исследовательских экспертиз научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии аккредитован в соответствии с СТБ ИСО/МЭК 17025, регистрационный номер: ВУ/122 02. 1.0.0870.

Все используемое оборудование являлось поверенным в государственных органах по стандартизации и метрологии.

Пробы молока отбирали от животных трижды, в разное время доения и подвергали иммуноферментному анализу на фасциолез.

Полученные результаты исследований методом ИФА сопоставлялись между группами, а также с результатами гельминтологического исследования.

Была подобрана группа из 10 голов животных, предназначенных для сдачи на мясокомбинат по причине технологической выбраковки. Животные были подвергнуты параллельному гельминтологическому обследованию методом ИФА молока и исследованию фекалий методом последовательных промываний. Во время убоя группы животных был проведен гельминтологический осмотр.

Результаты исследований. Поскольку фасциолы в организме хозяина проходят сложный и довольно продолжительный путь развития, то вопрос о том, на каких стадиях развития фасциолы стимулируют у хозяина формирование иммунных реакций, является актуальным. Исходя из активности иммунной системы, можно предположить, на какой из стадий развития процесса были бы эффективны серологические методы диагностики.

Анализ имеющегося по данному вопросу большого числа экспериментальных данных показал, что в большинстве случаев при спонтанных инвазиях напряженность иммунитета выше в период паразитирования юных форм [2].

В результате воздействия тех или иных антигенов гельминта, в организме хозяина происходит синтез антител, являющихся, в основном, γ -глобулинами и относящихся к иммуноглобулинам разных классов. В настоящее время известно 5 основных классов иммуноглобулинов – IgM, IgG, IgA, IgE и IgD, отличающихся друг от друга строением тяжелых цепей и свойствами [4].

Проведенное нами исследование овец, инвазированных фасциолами, позволило выявить четкую динамику изменения как концентрации отдельных иммуноглобулинов, так и изменения их соотношения между классами (таблица 1).

Таблица 1 – Динамика изменения содержания иммуноглобулинов по классам в крови овец, инвазированных фасциолами в процессе развития инвазии, mg/dl

Класс иммуноглобулинов	Дни исследования			
	5	7	15	30
G	5,534	6,082	14,537	21,645
A	15,279	11,316	9,065	1,058
M	29,124	65,442	30,855	5,499

Анализ полученных данных показывает, что в начале инвазии (5, 7 дни) преобладают иммуноглобулины класса М и А, то уже на 15 день наблюдения концентрация иммуноглобулинов класса G возросла более чем в 2 раза по отношению к 7 дню, уровень иммуноглобулинов класса А снизился на 18,2%, а класса М – на 52,8%. Спустя 30 дней после инвазирования четко видно значительное преобладание иммуноглобулинов класса G по отношению ко всем остальным классам иммуноглобулинов. Таким образом, использование иммунологических реакций в процессе диагностики фасциоза представляется нам достаточно перспективным. Начиная с первых дней инвазии, отмечается четкая динамика развития иммунной реакции, проявляющаяся значительным ростом иммуноглобулинов класса G, однако встает вопрос, как длительно сохраняются активность иммунной системы и можно ли использовать серологические методы диагностики при переходе патологического процесса в хроническую стадию? Для ответа на поставленный вопрос мы оценили наличие антител к *Fasciola hepatica* в сыворотке крови инвазированных овец на протяжении 200 дней. На 7, 14, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 200 дни после заражения у овец отбиралась кровь и в реакции РГА определяли титр антител к *Fasciola hepatica* (рисунок 1).

Полученные результаты показывают, что достаточно быстро после заражения уровень антител выходит на диагностически достоверный и с 14 дня инвазии сохраняется на высоком уровне. При переходе патологического процесса в хроническую стадию уровень антител сохраняется на уровне 2,0-3,5 log I/n. Следовательно, разработка серологических методов диагностики фасциоза является перспективным направлением вне зависимости от стадии развития патологического процесса.

В связи с развитием клеточных технологий, молекулярной биологии, генетики, физики, химии и ряда других высокотехнологичных наук, в повседневную практику внедряются новые высокоточные и высокотехнологичные методы, в том числе метод иммуноферментного анализа (ИФА). Основной отличительной чертой ИФА является то, что в качестве индикаторной молекулы, которая позволяет следить за иммунным комплексом, используется молекула фермента. В связи с тем, что фермент обладает уникальным свойством модифицировать не одну, как в обычных химических реакциях, а большое число молекул субстрата, т.е. обладает своего рода усиливающим свойством, чувствительность иммуноферментных методик может

быть очень высока. В некоторых случаях, как показывают многочисленные сравнительные исследования, она выше чувствительности иммунофлуоресцентных и радиоиммунологических методов.

Различают два принципиально различных типа ИФА – гомогенный и гетерогенный (твердофазный) иммуноферментный анализ.

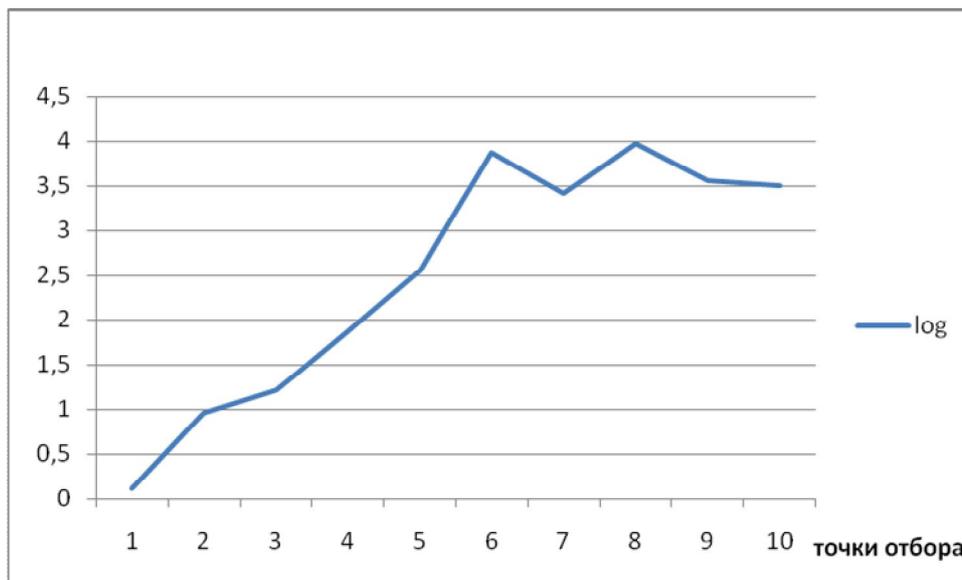


Рисунок 1 – Динамика выработки гемагглютинирующих антител к *Fasciola hepatica*.

Гомогенный иммуноферментный анализ (ГИФА) – наиболее простой в методическом отношении вид ИФА. При его постановке один из участников иммунной реакции (обычно это низкомолекулярный антиген) метится ферментом и за ходом формирования комплекса антиген-антитело следят, регистрируя изменение активности фермента. Такое нарушение ферментативной активности может возникать либо за счет пространственного разобщения фермента и субстрата, либо за счет конформационных изменений в молекуле фермента, сопровождающих формирование иммунного комплекса. Однако у метода ГИФА имеется один крайне существенный недостаток – на его основе можно создавать диагностические тест-системы только для низкомолекулярных антигенов. Только в этом случае антитело, взаимодействуя с антигеном, может эффективно экранировать или модифицировать связанную с этим антигеном молекулу фермента. Именно в связи с этим, несмотря на кажущуюся простоту и очевидные преимущества перед другими методами, на основе ГИФА были созданы диагностические тест-системы для выявления только гормонов, пептидов, лекарственных и наркотических веществ и некоторых низкомолекулярных белков.

Гетерогенный (твердофазный) иммуноферментный анализ (ТФИФА или ELISA) в последние годы особенно широко используется в биологии и медицине. Как и для других твердофазных методов анализа, характерной особенностью ТФИФА является то, что в процессе проведения анализа один из участников реакции антиген-антитело иммобилизуется на твердом носителе. Эту фиксацию антигена или антител можно осуществлять либо путем их ковалентной «пришивки» к полимерной или стеклянной матрице, либо путем их физической адсорбции на твердом носителе за счет достаточно прочных сил электростатического и ван-дер-ваальсового взаимодействия. Идея иммобилизации иммунного комплекса важна для анализа многокомпонентных смесей макромолекул, когда в системе должны оставаться только те компоненты смеси, которые обладают нужными иммунохимическими свойствами. Именно твердофазные методики позволяют избавиться от балластных, не вошедших в иммунный комплекс антигенов простой промывкой.

Ранее при разработке иммунологических реакций на фасциолез использовался неочищенный экстракт *Fasciola hepatica*, который не давал необходимого уровня достоверности. В последнее время разработана технология получения очищенного «f2» антигена позволяющего значительно повысить специфичность серологической диагностики фасциолеза. Антиген «f2» обладает высокой иммуногенностью и специфичностью в отношении *Fasciola hepatica*.

В связи с вышеуказанным, нами была проведена оценка эффективности применения ИФА диагностики при фасциолезе крупного рогатого скота, разработанная на основе реакции с использованием «f2» антигена.

На первом этапе нами выполнена оценка специфичности ИФА метода по исследованию сыворотки крови.

Отобрав 10 проб крови и 10 проб фекалий от заведомо больных животных, мы провели исследования и сопоставили полученный результат (таблица 2).

Полученные результаты показали, что ИФА диагностика фасциолеза при исследовании сыворотки крови животных, основанная на выявлении антител, специфичных к «f2» антигену *Fasciola hepatica*, обладает высокой степенью как чувствительности, так и воспроизводимости.

Таблица 2 – Сравнительная оценка эффективности ИФА исследования сыворотки крови и копроскопических методов диагностики фасциолеза у дойных коров

Показатели	Методы диагностики		
	ИФА крови	Метод последовательных промываний	Метод Вишняускаса
Выявлено положительных проб	10	7	8
Чувствительность, %	100	70	80
Воспроизводимость, %	100	60-90	70-100
Ложно положительных проб	0	0	0

При современных технологиях промышленного выращивания крупного рогатого скота все большее количество комплексов переходят на беспривязные способы содержания животных, что затрудняет процедуру отбора крови и делает ИФА исследование фасциолеза по исследованию сыворотки крови громоздким.

На втором этапе исследования мы приступили к оценке эффективности использования ИФА диагностики фасциолеза у крупного рогатого скота при исследовании молока.

В результате проведенной нами работы было установлено, что в группе, сформированной из заведомо больных животных, положительную реакцию по методу ИФА дали 100% проб исследованного молока. Двукратное повторное исследование проб молока также показало 100% воспроизводимость исследования (таблица 3).

Таблица 3 – Сравнительная оценка эффективности ИФА исследования молока и копроскопических методов диагностики фасциолеза у дойных коров

Показатели	Методы диагностики		
	ИФА молока	Метод последовательных промываний	Метод Вишняускаса
Чувствительность, %	100	55-76	71-88
Воспроизводимость, %	100	60-90	70-96
Ложноположительных проб	0	0	0

В группе с условно здоровыми животными были выявлены 12 проб молока из 50, дающих положительную реакцию на фасциолез при исследовании методом ИФА. Следовательно, 24% проб, исследованных методом последовательных промываний, дали ложноотрицательный результат. При этом исследование молока методом иммуноферментного анализа на наличие антител к возбудителю фасциолеза позволило обнаружить животных, больных фасциолезом, но считавшихся здоровыми по результатам исследования фекалий.

В группе коров, подвергавшихся дегельминтизации за 60 дней до исследования, ни одна проба молока не дала положительной реакции на фасциолез методом ИФА.

Одновременное обследование 200 животных на наличие фасциолеза методом последовательных промываний фекалий и исследование молока методом ИФА позволило выявить 52 положительных пробы молока (26%), и только 28 проб фекалий, положительных по фасциолезу (14%). Повторное исследование фекалий методом последовательных промываний обнаружило 35 положительных на фасциолез проб (17,5%). Таким образом, расхождение между методами составляет 8,5-12%.

Исследование группы коров, предназначенных для технологической выбраковки, позволило выявить 7 животных, дающих положительную реакцию на фасциолез при исследовании молока методом ИФА, при этом гельминтологическим исследованием фекалий фасциолез был установлен только в 3 пробах. Убой животных и последующий осмотр внутренних органов позволил подтвердить 100% специфичность и достоверность ИФА исследования молока с целью выявления наличия антител к *Fasciola hepatica*.

Заключение. У животных, инвазированных *Fasciola hepatica*, развивается комплекс иммунных реакций, изменяющий уровень иммуноглобулинов и их соотношения по классам. С первых дней инвазии значительно увеличивается концентрация иммуноглобулинов класса G, достигающая к 15 дню 14,537 mg/dl, что в 2,6 раза выше, чем на 5-й день наблюдения. Уровень антител, достигнув диагностически достоверного содержания к 14-му дню, сохраняется на протяжении всего периода наблюдения на уровне 2,0-3,5 log I/n. Высокая активность иммунной системы у животных, инвазированных *Fasciola hepatica*, позволяет рекомендовать разработку и использование современных серологических методов диагностики заболевания.

Оценка твердофазного иммуноферментного метода анализа (ИФА) с использованием диагностической тест-системы IDEX при диагностике фасциолеза у крупного рогатого скота по исследованию молока показала высокую специфичность, воспроизводимость и чувствительность, что позволяет рекомендовать широкое внедрение данного метода в работу ветеринарной службы республики.

Литература. 1. Жариков, И.С. Гельминтозы жвачных животных / И.С. Жариков, Ю.Г. Егоров. – Минск: Ураджай, 1977. – 174 с. 2. Щурова, Н.Ю. Особенности иммунитета и химиотерапия фасциолеза крупного рогатого скота: автореф. дис...канд. вет. наук: 03.00.19 / Н.Ю. Щурова. – Минск, 2008. 3. Ятусевич, А. И. Гельминтозы крупного рогатого скота и меры борьбы с ними в условиях экологического прессинга: монография / А.И. Ятусевич, Р.Н. Протасовицкая. – Витебск: ВГАВМ, 2010. – 160 с. 4. Ятусевич, А. И. О *Fasciola hepatica* L., 1758 в функционирующей паразитарной системе жвачных животных в Республике Беларусь (эволюция проблем) / А.И. Ятусевич, Е.Л. Братушкина, И.А. Ятусевич, М.В. Скуловец, Л.А. Вербицкая, Р.Н. Протасовицкая // Ученые записки учреждения образования "Витебская государственная академия ветеринарной медицины". - Витебск, 2014. - Т. 50, вып. 1. - С. 71-81.

Статья передана в печать 17.03.2015г.

УДК 619:616.995.132.6:636.2

CAPELLARIA BOVIS В ПАРАЗИТАРНОЙ СИСТЕМЕ ЖВАЧНЫХ**Ятусевич А.И., Ковалевская Е.О., Вербицкая Л.А.**

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

В хозяйствах Республики Беларусь капилляриоз жвачных имеет широкое распространение. Экстенсивность инвазии у крупного рогатого скота в среднем по Республике Беларусь составила 11,9%, у овец – 3,46%. Капилляриоз установлен у всех возрастных групп. Наибольшая экстенсивность инвазии у крупного рогатого скота – в возрастной группе 6 – 8 месяцев (28,9%); у овец в большей степени заражены взрослые животные (4,74%). Заболевание регистрируется во все сезоны года, однако, наибольшая зараженность животных – в осенний период.

In the farms of the Republic of Belarus capillariasis ruminants is widespread. Ex-intensity of infestation in cattle on average in the Republic of Belarus amounted to 11,9%, sheep – 3,46%. Capillariasis installed in all age groups. The greatest extent of infestation in cattle - in the age group of 6 - 8 months (28,9%); sheep for-razheny adult animals (4,74%). The disease is recorded in all seasons, but most nai-infected animals - in the autumn.

Ключевые слова: нематоды, капиллярии, распространение, сезонная и возрастная динамика.

Keywords: nematodes, capillaries, distribution, seasonal and age dynamics.

Введение. Паразитарные болезни имеют широкое распространение в большинстве регионов мира и наносят большой экономический ущерб, который складывается от падежа животных, потерь, связанных со снижением молочной и мясной продуктивности, ухудшением качества продукции и нарушением воспроизводительной функции животных. Значительное распространение инвазионные болезни имеют и в Республике Беларусь [5].

Несмотря на многочисленные исследования, паразитологическая ситуация в животноводстве остается напряженной. Сложность решения проблемы борьбы с паразитозами животных состоит как в видовом разнообразии возбудителей этих болезней, так и трансформации их циклов развития в изменяющейся экологической обстановке. Все большее влияние оказывают антропогенные факторы, особенно при промышленном ведении животноводства. В условиях экологического прессинга обостряется эпизоотологическая ситуация по новым и вновь возвращающимся гельминтозам.

В последние годы на территории нашей республики наблюдается тенденция к широкому распространению таких нематодозных заболеваний, как трихоцефалезы жвачных. Среди них – капилляриоз крупного рогатого скота и овец.

В Республике Беларусь до последнего времени данный гельминтоз не диагностировался, но уже с 2002 года его регистрируют все чаще.

Капилляриоз жвачных - это малоизученное нематодозное заболевание, сведения о котором во всем мире исчерпываются единичными публикациями. Возбудитель - нематода *Capillaria bovis* (Schnyder, 1906), принадлежащая к семейству Capillariidae, подотряду Trichocephalata. Локализуется в тонком кишечнике. В Беларуси впервые сообщила о паразитировании этих нематод у крупного рогатого скота и овец А.Ф. Бобкова (1956, 1959) [1,2,3,4].

Материалы и методы исследований. Цель исследования: изучить распространение капилляриоза крупного рогатого скота и овец, сезонную и возрастную динамику инвазированности животных в условиях Республики Беларусь.

Объектом исследования служили овцы и крупный рогатый скот различных возрастных групп, инвазированные капилляриями. Пробы фекалий исследовались в лаборатории кафедры паразитологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», а также в районных ветеринарных лабораториях.

Пробы фекалий исследовали флотационными методами (по методу Дарлинга с насыщенным раствором поваренной соли и по методу Щербовича с насыщенным раствором гипосульфита натрия).

Результаты исследований. Изучение распространения, сезонной и возрастной динамики капилляриоза овец проводили в специализированном хозяйстве «Дружба» Брестской области, фермерском хозяйстве «Сеньково» Витебской области, а также в индивидуальных хозяйствах Витебской, Могилевской, Минской, Брестской, Гродненской областей.

В хозяйстве «Дружба» Брестской области всего исследовано 3045 проб фекалий. Установлено, что капилляриями заражены 4,74% овцематок, 4,66% ягнят, 2,31% молодняк 6-12 месячного возраста. Максимальная зараженность капилляриями отмечена в осенний период – 5,88%, минимальная – в зимний период – 2,23%.

Изучение распространения капилляриоза овец в частном секторе южной природно-климатической зоны (южные районы Брестской области) выполнено на 1267 овцах. Капиллярии обнаружены у ягнят до 6 месячного возраста – 5,71% и молодняка 6-12 месячного возраста – 0,63%. У взрослых животных яйца *Capillaria bovis* не выявлены. Максимальное количество капиллярий приходилось на зиму (2,95%), минимальное (0,31%) – на весенний период.

Исследование овец в частном секторе западного региона (западные районы Гродненской области) выполнено на 442 взрослых животных, 258 ягнятах до 6 месячного возраста, 360 головах 6-12- месячного возраста. Экстенсивность капилляриозной инвазии составила соответственно 0,45%, 6,20% и 0,27%.

Анализируя сезонность заболевания, установили максимальное количество капиллярий (2,74%) в зимний, минимальное – в летний (0,35%) периоды.

В частном секторе северной агроклиматической зоны (северные районы Витебской области) исследованы 1034 пробы фекалий от овец. У взрослых животных капиллярии не обнаружены. Ягнята до 6 месячного возраста и молодняк 6-12-месячного возраста инвазированы данным гельминтозом на 4,81% и 4,11% соответственно. Пик инвазии был в осенний период (2,99%), слабее всего инвазированность была зимой (2%).

При изучении эпизоотологии капилляриоза в восточной агроклиматической зоне (восточные районы Могилевской области), капиллярии выявлены у взрослых овец (3,29%), ягнят до 6 месячного возраста (4,64%), животных 6-12 месячного возраста (0,59%). Капилляриоз достигает максимума в осенний период (4,94%) и уменьшается весной (1,2%).

В природно-климатических условиях Республики Беларусь существенных отличий в экстенсивности капилляриозной инвазии не отмечено. Однако следует учитывать, что в частном секторе центральной агроклиматической зоны (центральные районы Минской области), капилляриозная инвазия отсутствовала. Не обнаружены капиллярии и у овец фермерского хозяйства «Сеньково» Витебской области.

Для выяснения распространения, сезонной и возрастной динамики капилляриоза крупного рогатого скота проводили систематические, по сезонам года, копроскопические исследования в хозяйствах с разной технологией содержания животных в течение 2004 – 2008 годов. Исследования проводили в Витебской области (Витебский, Шумилинский, Бешенковичский, Докшицкий районы); Могилевской (Быховский, Шкловский, Кировский районы и др.); Минской (Любанский, Минский районы и др.); Гомельской (Речицкий, Калинковичский районы и др.); Гродненской (Новогрудский, Гродненский районы и др.); Брестской (Кобринский, Малоритский, Брестский районы и др.).

Таблица 1 – Распространение *Capillaria bovis* в условиях Республики Беларусь

Область	Исследовано, животных	Из них инвазировано, животных	ЭИ, %	ИИ, среднее количество яиц капиллярий в 1г фекалий
Витебская	537	105	19,5	122,78±7,63
Могилевская	358	50	13,9	73,71±5,94
Брестская	242	27	11,1	110,77±15,47
Гомельская	160	19	11,8	198,63±41,02
Гродненская	138	12	8,6	96,2±14,80
Минская	164	9	5,4	53,44±8,96
Всего	1599	222	13,8	108,56±20,71

Из таблицы 1 видно, что наиболее часто капилляриоз наблюдался в Витебской и Могилевской областях, реже – в Брестской, Гомельской и Гродненской, совсем редко – в Минской области.

В хозяйствах Витебской области капилляриоз установлен у 3,8% – 40% обследованного поголовья. Наибольшая экстенсивность инвазии в хозяйствах Витебской области обнаружена нами в СПК «Бочейково» Бешенковичского района, где зарегистрировано 40% инвазированного капилляриями поголовья, и СПК «Придвинский», где экстенсивность инвазии составила 34%. В хозяйствах Могилевской области капилляриоз регистрировался у 2% – 40% обследованного поголовья, при этом максимальная экстенсивность инвазии (40%) отмечена в СПК «Володарского» Быховского района. В хозяйствах Гомельской области капилляриоз установлен у 3% – 20% обследованного поголовья. В хозяйствах Брестской области капилляриоз регистрировался у 4% – 20% обследованного поголовья, наибольшая экстенсивность инвазии отмечена в СПК «Домачево». В хозяйствах Гродненской области капилляриоз диагностировался у 3,3% – 2% обследованного поголовья. В СПК «Принеманский» Новогрудского района отмечена наивысшая интенсивность инвазии (25%). В хозяйствах Минской области капилляриоз отмечен у 2,9%– 11,7% обследованного поголовья. Экстенсивность инвазии 11,7% – в СПК «Осовец-Агро» Любанского района.

Во всех областях нашей республики капилляриоз чаще выявлялся нами в хозяйствах молочного направления, где экстенсивность инвазии колебалась от 2,9% до 40%, реже – мясомолочного (3% – 18,7%), и совсем редко – в хозяйствах мясного направления (от 0,2% до 5%) (таблица 2).

Таблица 2 - Распространение капилляриоза в разных типах животноводческих хозяйств Беларуси, %

Область	Всего, min/max	Молочное направление	Мясомолочное направление	Мясное направление
Витебская	3,8 – 40,0	24,97±2,38	13,35±5,35	4,4±0,60
Могилевская	2,0 – 40,0	23,77±5,45	5,51±1,52	2,1±0,11
Брестская	4,0 – 16,6	12,86±1,30	4,51±0,50	-
Гомельская	3,0 – 20,0	17,75±6,00	4,16±0,84	-
Гродненская	3,3 – 25,0	22,55±9,46	3,76±0,44	0,33±0,10
Минская	2,9 – 11,7	8,66±1,95	-	-
В среднем по республике	11,9±1,92	18,41±2,68	6,25±1,8	2,26±1,19

В хозяйствах мясного направления Гомельской и Гродненской областей капилляриоз не установлен. В Минской области капилляриоз выявлен только в хозяйствах молочного направления.

Полученные нами данные можно объяснить разными условиями содержания животных (что непосредственно влияет на цикл развития паразита и на возможность перезаражения животных), наличием разных половозрастных групп животных. Так, в хозяйствах мясного и мясомолочного направлений поголовье в

основном представлено телятами на откорме, часто содержащимися на привязи. На комплексах по откорму предусмотрено содержание животных на щелевом полу, уборка навоза с применением гидросмыва, поение водопроводной водой, что предупреждает занос и внедрение гельминтов в организм животных. Таким образом, в данных хозяйствах менее благоприятны условия для развития паразита во внешней среде и меньше вероятность перезаражения животных. Однако необходимо учитывать, что комплексы комплектуются телятами из разных хозяйств, и нередко животные заражены гельминтами. Тогда как в хозяйствах молочного направления используется стойлово-выгульное содержание, а проведенными нами исследованиями установлено, что одним из основных источников заражения животных капилляриозом в осенне-зимний период служит подстилка, а в весенний и летний – инвазированные пастбища и выгульные дворики.

При изучении возрастной динамики капилляриоза установлено, что у телят от рождения до 2-х месяцев капилляриоз не наблюдался.

Впервые заболевание регистрировалось нами у телят в возрастной группе от 2 до 4 месяцев с экстенсивностью инвазии от 0,2% до 5%.

В возрастной группе 4 – 6 месяцев экстенсивность инвазии составила от 3% до 40%.

Самая высокая экстенсивность инвазии отмечена в возрастной группе 6 – 8 месяцев, с колебанием в пределах от 5% до 34%.

В возрастной группе 8 – 12 месяцев экстенсивность инвазии снижалась до 13,4% с колебанием в пределах от 8 до 30%.

В возрастной группе 1 – 3 года экстенсивность инвазии составляла в среднем 11,20%, с колебанием в пределах от 1,9% до 20%.

В возрастной группе старше 3-х лет наблюдалось заметное снижение экстенсивности инвазии – до 5,1%, с колебанием от 0,2% до 10,0% (таблица 3).

Таблица 3 - Возрастная динамика инвазированности крупного рогатого скота *Capillaria bovis*

Возраст животных	Исследовано, голов	Из них инвазировано, голов	ЭИ, %
2-4 месяца	273	12	4,3
4-6 месяцев	261	45	17,2
6-8 месяцев	301	87	28,9
8-12 месяцев	289	39	13,4
от 1 до 3-х лет	240	27	11,2
старше 3-х лет	235	12	5,1

Полученные данные мы объясняем тем, что в возрастном периоде от 4 до 8 месяцев телята наиболее восприимчивы к гельминтозам, имеют слаборазвитую иммунную систему, в отличие от взрослого поголовья. Так как у телят до двухмесячного возраста яйца капиллярий не обнаружены, мы исключаем внутриутробное заражение.

Течению гельминтозов, как правило, присуща сезонность. Основная задача гельминтологической науки – изыскание средств и разработка методов профилактики и борьбы с гельминтозами животных. Успешное решение этой задачи без всестороннего изучения сезонной динамики гельминтозов практически невозможно. В свою очередь это позволяет прогнозировать эпизоотии и разрабатывать систему профилактических мероприятий. Без знания сезонной динамики инвазированности животных невозможно дать как краткосрочный, так и долгосрочный прогноз возникновения гельминтозов, научно обосновать рациональные сроки дегельминтизации и химиофилактики, а также проведение организационно-хозяйственных мероприятий. Выявление закономерностей сезонности и периодичности эпизоотического процесса представляет собой одну из важнейших его качественных характеристик и является составной частью системы прогнозирования паразитологической ситуации.

Таблица 4 - Сезонная динамика инвазированности крупного рогатого скота *Capillaria bovis*

Сезон	Исследовано, животных	Из них инвазировано, животных	ЭИ, %
Зима	325	26	8,0
Весна	387	21	5,4
Лето	441	52	11,7
Осень	446	123	27,5

Из данных таблицы 4 видно, что наиболее высокая экстенсивность инвазии наблюдается в осенний период, в среднем по хозяйствам – 27,5%, при этом минимальная интенсивность составляла 3,33%, максимальная – 40%.

В зимний период инвазированность животных снижается до 8,0%, при этом минимальная экстенсивность составляет 2,94%, максимальная – 13,3%.

В весенний период экстенсивность инвазии была самой низкой – 5,4%, с колебаниями от 0,2% до 7,69%.

В летний период экстенсивность инвазии снова возрастает и достигает 11,7%, при этом минимальная экстенсивность составляла 5%, максимальная – 21,2%.

При изучении динамики капилляриозной инвазии нами установлено, что у телят текущего года рождения (родившихся в стойловый период) яйца капиллярий впервые появляются в весенний период (апрель – май) в возрасте 2 – 4 месяца. В данном случае заражение капилляриями происходит в помещениях (подстилка, внешние покровы животных). Вначале наблюдается слабое заражение – 5,4%. В июне-июле наступает массовое перезаражение животных на выгульных двориках, пастбищах. Наивысшая инвазированность телят отмечается в осенние месяцы (27,5% в сентябре – октябре), что мы связываем с достижением половой зрелости капилляриями новой генерации. Начиная с января-февраля инвазированность животных снижается и составляет 8%, что, по нашему мнению, обусловлено самоосвобождением животных от капиллярий из-за

короткой продолжительности жизни паразитов – 2 – 2,5 месяца (результаты опыта). С переходом скота на пастбище за счет нового заражения идет подъем инвазии. Снежный покров исчезает к концу марта – началу апреля, и для развития яиц капиллярий создаются благоприятные условия (оптимальная температура и влажность). В конце мая – июне с появлением благоприятных погодных факторов в яйцах формируются инвазионные личинки, и выпасные участки оказываются загрязнены инвазионными яйцами капиллярий. Однако заражение животных сразу после выгона на пастбище незначительно, так как часть капиллярий не перезимовывают. Массовое инвазирование животных происходит во второй половине пастбищного сезона, о чем свидетельствует максимальная зараженность крупного рогатого скота в осенне-зимние месяцы. В сентябре-октябре с понижением температуры развитие инвазионных личинок капиллярий во внешней среде прекращается и уменьшается возможность дальнейшего заражения животных данной инвазией. К весне животные постепенно освобождаются от паразитов, что ведет к снижению экстенсивности и интенсивности инвазии.

Заключение.

1. Полученные нами данные свидетельствуют о широком распространении капилляриоза крупного рогатого скота и овец. При этом экстенсивность капилляриозной инвазии у крупного рогатого скота в среднем по Республике Беларусь составила 11,9%, у овец – 3,46%.

2. В частных подворьях в различных природно-климатических зонах Республики Беларусь инвазированность овец капилляриями составляла 0,27 – 6,2%.

3. Капилляриоз крупного рогатого скота чаще обнаруживался в хозяйствах молочного направления (18,41±2,68%), реже – в хозяйствах мясомолочного (6,25±1,8%) и мясного направлений (2,26±1,19%).

4. Наибольшая экстенсивность инвазии капилляриями у крупного рогатого скота отмечалась в возрастной группе 6 – 8 месяцев (28,9%); у овец капилляриями в большей степени заражены взрослые животные – 4,74%.

5. Максимально высокая экстенсивность капилляриозной инвазии у жвачных наблюдается в осенний период и составляет в среднем по хозяйствам у крупного рогатого скота 27,5%, у овец – 5,81%.

Литература. 1. Гагарин, В.Г. Ревизия капилляриид (*Capillariidae* – Neveu-Lemaire 1936), паразитирующих у жвачных (*Ruminantia*) в СССР / В.Г. Гагарин, В.Г. Чулкова, «Тр. Всес. ин-та гельминтол.», 1971, XVIII, с. 47-66. 2. Демидов, Н.В. Гельминтозы животных: Справочник. / Н.В. Демидов, – М.: ВО «Агропромиздат», 1987. – 335с. 3. Липницкий, С.С. Определитель гельминтов жвачных животных Республики Беларусь / С.С. Липницкий, В.Ф. Литвинов, Н.Ф. Карасев: Аналит. обзор /Белнаучцентрформмаркетинг АПК. – Мн., 2001.-С.15-16. 4. Меркушева, И.В. Гельминты домашних животных Белоруссии / И.В. Меркушева, А.Ф. Бобкова: Каталог. – Минск: Наука и техника, 1981. – 120. 5. Ятусевич, А.И. Паразитология и инвазионные болезни животных: учебник для студентов по специальности «Ветеринарная медицина» учреждений, обеспечивающих получение высшего образования / А.И. Ятусевич, Н.Ф. Карасев, М.В. Якубовский; под ред. А.И. Ятусевича. - Минск: ИВЦ Минфина, 2007.- 580с., ил

Статья передана в печать 21.04.2015 г.

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
НЕЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ ЖИВОТНЫХ	
1. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ТЕЛЯТ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОМ СПОСОБЕ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ РОСТА РОГОВ В КОМПЛЕКСЕ С РАСТВОРОМ «БЕЛАВИТ» Анашкин Е.Е., Руколь В.М. УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь	3
2. ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И ОЦЕНКА МЕСТНОГО РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ИНТРАЦИСТЕРНАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА «СУПЕРМАСТ» Бабаянц Н.В., Мирончик С.В. УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь	6
3. ОЦЕНКА ИММУНОГРАММ СОБАК С РАЗНЫМ ОТНОСИТЕЛЬНЫМ КОЛИЧЕСТВОМ РОЗЕТКООБРАЗУЮЩИХ НЕЙТРОФИЛОВ Брошков М.М. Одесский государственный аграрный университет, г. Одесса, Украина	10
4. АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА И ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ НЕЛЬМЫ (STENODUS LEUCISHTHYS NELMA (PALLAS)), ВЫЛАВЛИВАЕМОЙ В НИЗОВЬЯХ АКВАТОРИИ РЕКИ ЕНИСЕИ *Гнедов А.А., **Кайзер А.А. *УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь, **ФГБНУ «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства и экологии Арктики», г. Норильск, Российская Федерация	12
5. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА И ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ МЯСА ДОМАШНИХ СЕВЕРНЫХ ОЛЕНЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛОВОЗРАСТНЫХ ГРУПП *Гнедов А.А., **Кайзер А.А., **Марцега Е.В. * УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь, **ФГБНУ «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства и экологии Арктики», г. Норильск, Российская Федерация	17
6. ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ БЕЛОМЫШЕЧНОЙ БОЛЕЗНИ У СВИНЕЙ *Головаха В.И., *Пиддубняк О.В., *Шуляк В.В., **Петренко А.С., ***Паценко Д.А., ***Паценко Е.В. *Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина, **ГНИИ лабораторной диагностики и ветеринарно-санитарной экспертизы, г. Киев, Украина, ***Компаниевский техникум ветеринарной медицины, Украина	21
7. ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ И ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА ЖИРА-СЫРЦА ТУШЕК ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ ОБОГАЩЕНИИ РАЦИОНА ПРОБИОТИЧЕСКОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКОЙ «ПРОБИКС» Головко Н.П., Яценко И.В. Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина	25
8. МАКРО- И МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ МОЗЖЕЧКА ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ Горальский Л.П., Солимчук В.М. Житомирский национальный агроэкологический университет, г. Житомир, Украина	29
9. ПОКАЗАТЕЛИ СОСТАВА КРОВИ КОРОВ В ПЕРИОД СУХОСТОЯ И ПОСЛЕ ОТЕЛА Грищук Г.П. Житомирский национальный агроэкологический университет, г. Житомир, Украина	32
10. ГИСТОСТРУКТУРА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОРОК ЦВЕТОВОГО ТИПА САПФИР И СКАНБЛЭК В ОСЕННИЙ ПЕРИОД В СВЯЗИ СО «СТРИЖКОЙ» ВОЛОСЯНОГО ПОКРОВА Демченко Я.С., Ревякин И.М. УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь	34
11. МОНИТОРИНГ СОДЕРЖАНИЯ МИКОТОКСИНОВ В КОРМАХ Дубина И.Н., Рябинкова И.М., Притыченко А.В., Притыченко А.Н. УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь	37

12. **ПАТОМОРФОЛОГИЯ НЕФРОПАТИЙ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ У КУР** 41
Журов Д.О.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь
13. **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ДИОКСИДИНА И ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ** 45
ОЦЕНКА ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА ПОСЛЕ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ
Ивашкевич О.П.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь
14. **МАСТИТ И ВОСПРОИЗВОДСТВО СТАДА В УСЛОВИЯХ МОЛОЧНЫХ КОМПЛЕКСОВ** 48
Ивашкевич О.П.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь
15. **ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОНЕЙРОСТИМУЛЯЦИИ С ЦЕЛЬЮ ИДЕНТИФИКАЦИИ ПОЛОЖЕНИЯ** 51
ИГЛЫ В ЭПИДУРАЛЬНОМ ПРОСТРАНСТВЕ У СОБАК
Ильницький Н.Г., Слюсаренко Д.В.
Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина
16. **СОДЕРЖАНИЕ ХОЛЕСТЕРОЛА И ТРИАЦИЛГЛИЦЕРОЛОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПОРОСЯТ В** 54
ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОСОБЕННОСТЕЙ КОРКОВОЙ И ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ РЕГУЛЯЦИИ
Карповский В.В., Карповский П.В., Ландсман А.А., Скрипкина В.Н.,
Постой Р.В., Криворучко Д.И., Трокоз В.А., Карповский В.И.
Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина
17. **СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕР БОРЬБЫ С ГИПОКОБАЛЬТОЗОМ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА** 56
Коваленок Ю.К.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь
18. **ОБЩАЯ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ И СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ В** 59
СОДЕРЖИМОМ СЛЕПЫХ КИШОК У СТРАУСЯТ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ГУМИЛИДА
Коляда С.Г., Степченко Л.М.
Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, г. Днепропетровск, Украина
19. **ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РУБЦОВОГО ПИЩЕВАРЕНИЯ БЫЧКОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ** 62
УРОВНЯХ РАСЩЕПЛЯЕМОСТИ ПРОТЕИНА
***Кот А.Н., *Глинкова А.М., **Лемешевский В.О., *Симоненко Е.П., *Шевцов А.Н.**
*РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству»,
г. Жодино, Республика Беларусь,
**УО «Полесский государственный университет», г. Пинск, Республика Беларусь
20. **КОРРЕКЦИЯ ОБМЕННЫХ НАРУШЕНИЙ У БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ В УСЛОВИЯХ** 66
ВИТАМИННО-МИНЕРАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ
Кузьменкова С.Н., Ковзов В.В., Волков Л.В.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь
21. **СТИМУЛЯЦИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ С** 70
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ «ТРИВИТАМИН» И «КМП плюс»
Кузьменкова С.Н., Ковзов В.В., Волков Л.В.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь
22. **УРОЦИСТИТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА** 73
Курдеко А.П., Сонов А.А.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь
23. **КОРРЕЛЯЦИОННЫЕ СВЯЗИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИМФОИДНЫХ И ЭНДОКРИННЫХ СТРУКТУР** 76
ДИВЕРТИКУЛА МЕККЕЛЯ ГУСЕЙ
Куц Н.Н., Бырка Е.В.
Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина

24. **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС В НОРМЕ** 80
***Лебедева Е.И., *Мяделец О.Д., **Прудников В.С.**
 *УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,
 г. Витебск, Республика Беларусь,
 ** УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
25. **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ТОКСИЧЕСКОГО ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ У БЕЛЫХ КРЫС** 84
***Лебедева Е.И., **Прудников В.С., *Мяделец О.Д.**
 *УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,
 г. Витебск, Республика Беларусь,
 ** УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
26. **ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ЛОШАДИ НА РАННИХ ПАССАЖАХ INVITRO** 88
***Малюк Н.А.,**Безденежных Н.А.,**Адаменко И.Н.**
 *Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина,
 **Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев, Украина
27. **АНТИОКИСЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВИ (АОА) И ЕЕ ВЗАИМОСВЯЗЬ С СОДЕРЖАНИЕМ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В КРОВИ У ОВЕЦ** 91
Мацинович А.А.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
28. **УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК В МОЛОКЕ** 95
Миرونчик С.В., Бабаянц Н.В.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
29. **ФИЗИОЛОГО – БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ОРГАНИЗМА ТЕЛЯТ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕПАРАТОВ «ФЛОВЕТ» И «ФЛОРИКОЛ» ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ** 98
***Музыка В.П., *Лисовая Н.Э., *Сободош О.И., *Шкодяк Н.В.,** Авдаченко В.Д.**
 *Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок, г. Львов, Украина,
 ** УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
30. **ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ РЫБЫ, ВЫЛОВЛЕННОЙ ИЗ ВОДОЁМОВ СУМСКОЙ ОБЛАСТИ** 100
Назаренко С.Н.
 Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина
31. **СОДЕРЖАНИЕ ОБЩИХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ, ИХ КЛАССОВ И ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ИММУННЫХ КОМПЛЕКСОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ МОЛОДНЯКА ПЕРЕПЕЛОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ АКВАХЕЛАТНЫХ РАСТВОРОВ СЕЛЕНА И ГЕРМАНИЯ** 104
Нищенко Н.П., Емельяненко А.А.
 Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина
32. **ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА НЕЗАМЕНИМЫХ АМИНОКИСЛОТ НА ПРОЦЕССЫ ПИЩЕВАРЕНИЯ У ПЕРЕПЕЛОВ** 107
Нищенко Н.П., Порошинская О.А., Саморай Н.Н., Стовбецкая Л.С., Прокопишина Т.Б.
 Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина
33. **ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАННЕЙ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ КОРОВ С СИМТОМОКОМПЛЕКСОМ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ПРОГНОЗА ОТНОСИТЕЛЬНО ТЕЧЕНИЯ РОДОВ И ПОСЛЕРОВОДОГО ПЕРИОДА** 110
***Ордин Ю.Н., **Краевский А.И.**
 *Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина,
 **Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина
34. **СОДЕРЖАНИЕ ПРОГЕСТЕРОНА И ЭСТРАДИОЛА -17 β В ТЕЧЕНИЕ ПОЛОВОГО ЦИКЛА У КОБЫЛ** 113
***Подвалюк Д.В., **Подвалюк Ю.Д.**
 *Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Киевская область, Украина,
 **Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина

35. **ГУМАТ НАТРИЯ В РАЦИОНАХ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА** 115
 *Радчикова Г.Н., *Цай В.П., *Кот А.Н., *Сапсалева Т.Л., **Возмитель Л.А., ***Люднышев В.А.
 РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству»,
 г. Жодино, Республика Беларусь,
 ** УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь,
 *** УО «Белорусский государственный аграрный технологический университет»,
 г. Минск, Республика Беларусь
36. **АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ В ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ МАРГАНЦА, ЦИНКА, КОБАЛЬТА И МЕДИ** 119
 Ревякин И.М., Дубина И.Н.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
37. **ОСНОВНЫЕ АНАТОМО-ТОПОГРАФИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ КЛЕТОЧНОЙ АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ** 122
 Ревякин И.М., Пугач Е.А.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
38. **МОНИТОРИНГ УРОВНЕЙ СТРЕССОВЫХ МАРКЕРОВ ПРИ СПИНАЛЬНО-ЭПИДУРАЛЬНОМ ОБЕЗБОЛИВАНИИ ХИРУРГИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ У СОБАК** 125
 Рубленко С.В., Мельников А.В.
 Белоцерковский национальный аграрный университет, г. Белая Церковь, Украина
39. **БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КОСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА У СОБАК С ПЕРЕЛОМАМИ ТРУБЧАТЫХ КОСТЕЙ И ЗАМЕЩЕНИЕМ КОСТНЫХ ДЕФЕКТОВ «БИОМИНОМ-ГТ»** 129
 Рубленко М.В., *Семеняк С.А., * **Поворознюк В.В., ***Ульянич Н.В.
 *«Белоцерковский национальный аграрный университет», г. Белая Церковь, Украина,
 **Институт геронтологии им. Д.Ф. Чеботарьова НАМН Украины, г. Киев, Украина,
 ***Институт проблем материаловедения им. И.Н. Францевича, г. Киев, Украина
40. **ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТКАНЯХ ПРИ КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С БОЛЕЗНЯМИ ПАЛЬЦЕВ** 132
 Руколь В.М.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
41. **ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НИЗКИХ ИНТЕНСИВНОСТЕЙ НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС ПОРОСЯТ РАННЕГО ВОЗРАСТА** 136
 Себежко О.И., Короткевич О.С., Петухов В.Л.
 ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет», г. Новосибирск, Российская Федерация
42. **РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ РОДОВОГО ТРАВМАТИЗМА У КОРОВ И ОСНОВНЫЕ ЕГО ПРИЧИНЫ** 140
 Середжимова А.Г., Лазоренко А.Б.
 Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина
43. **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОМАТОТРОПНОГО ГОРМОНА В ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ ДЛЯ СОЗРЕВАНИЯ ООЦИТОВ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РАННИХ ЗАРОДЫШЕЙ IN VITRO** 142
 Симоненко В.П., Ганджа А.И., Леткевич Л.Л., Кириллова И.В., Курак О.П., Журина Н.В., Ковальчук М.А.
 РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству»,
 г. Жодино, Республика Беларусь
44. **МОРФОЛОГИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ** 147
 Федотов Д.Н.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
45. **КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ЛИГУРОЛ-ДЕРМА» ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЯЗВЕННЫХ ПОРАЖЕНИЙ КОПЫТЕЦ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА** 149
 Ховайло Е.В.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь

46. **ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА «ВИТАЗИМ» НА АНАТОМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ТУШЕК ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ** 153
Шульга Л.В., Лебедев С.Г., Юрашевич С.М.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

47. **СТАНОВЛЕНИЕ ГЕМОПОЭЗА У ТЕЛЯТ НА РАННИХ ЭТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА ПРИ ДЕЙСТВИИ ПИРИДОКСИНА ГИДРОХЛОРИДА** 156
Яремко О.В.
 Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого, г.Львов, Украина

ЗАРАЗНЫЕ БОЛЕЗНИ ЖИВОТНЫХ

48. **ВЛИЯНИЕ ПОЛИФАМА НА МОРФОЛОГИЮ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК У ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ИББ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО СОЧЕТАННОГО МИКОТОКСИКОЗА** 160
Аль-Араджи Ф.С., Большакова Е.И., Громов И.Н., Корчагина Д.В., Большаков С.А.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

49. **ВЛИЯНИЕ ЭНТЕРОСОРБЕНТА ТОКСИКОМА НА ОРГАНОМЕТРИЧЕСКИЕ, ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ИББ НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО СОЧЕТАННОГО МИКОТОКСИКОЗА** 164
Аль Араджи К.Ф.С., Громов И.Н., Дубина И.Н.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

50. **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ ПРЕПАРАТА «ДАРАН» НА ОСНОВЕ ФЛУБЕНДАЗОЛА НА БЕЛЫХ КРЫСАХ** 166
Баран В.И.
 Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина

51. **ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ЦЕСТОДОЗОВ В БЕЛАРУСИ** 170
Бекиш В.Я., Зорина В.В.
 УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь

52. **РАСПРОСТРАНЕНИЕ MELOPHAGUS OVINUS (DIPTERA: HIPPOBOSCIDAE) И БОРЬБА С НЕЙ В НЕБЛАГОПОЛУЧНОМ ХОЗЯЙСТВЕ** 174
Бырка В.И., Мазанный А.В.
 Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина

53. **ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКОБАКТЕРИЙ В ПОВЫШЕНИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЁЗА** 178
Ван Хунлян
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

54. **ПОДБОР РЕЖИМОВ РЕАКТОРНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПАСТЕРЕЛЛ И БОРДЕТЕЛЛ** 181
***Вербицкий А.А., *Морозов Д.Д., **Финогенов А.Ю., **Толяронок Г.Е.**
 *УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь,
 ** РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск, Республика Беларусь

55. **УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ КОПРООВОСКОПИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ТРИХОЦЕФАЛЕЗА СВИНЕЙ** 185
***Галат В.Ф., **Мельничук В.В.**
 *Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина,
 **Полтавская государственная аграрная академия, г. Полтава, Украина

56. **РАСПРОСТРАНЕНИЕ ТОКСОПЛАЗМОЗА КОЗ В УКРАИНЕ** 188
Галат М.В.
 Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина

57. **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ИЗОЛЯТОВ *SAMPYLOBACTER SPP.* К АНТИБИОТИКАМ** 190
Гладченко С.М.
Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина
58. **ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ, БИОЦИДНЫХ И КОРРОЗИОННЫХ СВОЙСТВ НОВОГО ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА ДЕЗОКСИВЕТ** 194
Готовский Д.Г.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
59. **ВЛИЯНИЕ ВИРУСА ИНФЕКЦИОННОГО БРОНХИТА НА ПАТОМОРФОЛОГИЮ ПОЧЕК ЦЫПЛЯТ** 197
Журов Д.О.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
60. **РЕЗУЛЬТАТЫ СЕРОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА КИШЕЧНОГО ИЕРСИНИОЗА СОБАК С КЛИНИЧЕСКИМИ ПРИЗНАКАМИ ГАСТРОЭНТЕРИТА** 201
Зон Г.А., Ивановская Л.Б., Кузнецов М.Ю., Кузнецова Е.Ю.
Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина
61. **ПОВРЕЖДЕНИЯ ДНК И АПОПТОЗ КЛЕТОК ХОЗЯИНА ДО И ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ ИНВАЗИИ ШИРОКИМ ЛЕНТЕЦОМ** 205
Зорина В.В., Бекиш В.Я.
УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь
62. **ПРИМЕНЕНИЕ ПРОБИОТИКА «КЛОСТАТ™ СУХОЙ» В БРОЙЛЕРНОМ ПТИЦЕВОДСТВЕ** 208
Капитонова Е.А., Мехова О.С.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
63. **ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ГЕЛЬМИНТОФАУНЫ ДИКИХ (*Anas platyrhynchos L.*) И ДОМАШНИХ (*Anas platyrhynchos f. dom.*) УТОК В СЕВЕРНОЙ ЗОНЕ БЕЛАРУСИ** 212
Кукар Д.В.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
64. **ХРОМОСОМНЫЕ МУТАЦИИ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ГОДОВИКОВ КАРПА ПРИ ИНВАЗИИ ЭКТОПАРАЗИТАМИ** 215
Лобойко Ю.В., Стибель В.В.
Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого, г. Львов, Украина
65. **ВЛИЯНИЕ СТРОНГИЛОИДОЗНОЙ ИНВАЗИИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ КРОВИ И ФАКТОРЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ЖЕРЕБЯТ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ** 218
Маковский Е.Г.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
66. **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО СРОКА ХРАНЕНИЯ ЖИДКОГО КОМПОНЕНТА АССОЦИИРОВАННОЙ СОРБИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВИРУСНОЙ ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ И МИКСОМАТОЗА КРОЛИКОВ** 222
***Матлак Д.А.; **Корниенко Л.Е.**
* УО «Белоцерковский национальный аграрный университет», Белая Церковь, Украина
**УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
67. **ПОЛУЧЕНИЕ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ТЕЛЯТ И КОНТРОЛЬ ЕЕ КАЧЕСТВА** 225
Медведев А.П., Корочкин Р.Б., Зайцева А.В., Меньшикова В.М., Морозов Д.Д.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
68. **МЕЖДУНАРОДНЫЙ ПОДХОД К ПРОБЛЕМЕ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ** 227
Морозов Д.Д.
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

69. **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПЕРЕСТРОЙКИ В ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РАСПРОСТРАНЕННОМ ГНОЙНОМ ПЕРИТОНИТЕ** 230
***Косинец В.А., **Федотов Д.Н.**
 *Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, г. Москва, Россия
 **УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
70. **ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОЙ СХЕМЫ ПРИМЕНЕНИЯ БАЦИНИЛА ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ТЕЛЯТ ПРОТИВ ТРИХОФИТИИ** 233
Мурад Маалуф Бешара Тони, Алешкевич В.Н., Красочко П.А.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
71. **ЛЕЧЕНИЕ ЯГНЯТ ПРИ ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ** 237
Мурзалиев И. Дж.
 УО «Витебская ордена «Знака Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
72. **ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА «АВЕССТИМ™» ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ АЭРОМОНОЗА КАРПОВ** 239
Петров Р.В.
 Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина
73. **ИММУНОПРЕЦИПИТАЦИЯ ОБЩЕРОДОВЫХ АНТИГЕНОВ КУЛЬТУРАЛЬНОГО ФИЛЬТРАТА МЫСОВАСТЕРИУМ БОВИС ИММУНОГЛОБУЛИНАМИ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ОЧИЩЕННОГО АЛЛЕРГЕНА НА МОРСКИХ СВИНКАХ** 242
Притыченко А.Н.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
74. **МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОСТНОГО МОЗГА ДЛЯ ОЦЕНКИ ИММУНОГЕННОСТИ ВАКЦИН И ПАТОГЕННОСТИ ВИРУСОВ У ЖИВОТНЫХ** 247
Прудников В.С., Никитенко И.Г., Громов И.Н., Селиханова М.К.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
75. **ИЗУЧЕНИЕ БАБЕЗИОЗА КОШЕК В Г. СУМЫ, УКРАИНА** 249
***Решетило А. И., **Никифорова О. В., ***Кульшин В.Е., *Ясиновская О. Н.**
 *Сумский национальный аграрный университет, г. Сумы, Украина,
 **Харьковская государственная зооветеринарная академия, г. Харьков, Украина,
 ***Харьковская медицинская академия последипломного образования, лаборатория «Вирола», г. Харьков, Украина
76. **СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СИСТЕМЫ КОНТРОЛЯ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ** 253
***Русинович А.А., **Мотузко С.Н.**
 *ГУ «Белгосветцентр», г. Минск, Республика Беларусь,
 **ОАО «Глубокский мясокомбинат», г. Глубокое, Республика Беларусь
77. **СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ ФАСЦИОЛЕЗА ДОЙНЫХ КОРОВ** 258
Ятусевич А.И., Дубина И.Н., Братушкина Е.Л., Захарченко И.П., Вербицкая Л.А.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
78. **SARILLARIA BOVIS В ПАРАЗИТАРНОЙ СИСТЕМЕ ЖВАЧНЫХ** 263
Ятусевич А.И., Ковалевская Е.О., Вербицкая Л.А.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

УО «ВИТЕБСКАЯ ОРДЕНА «ЗНАК ПОЧЁТА» ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины является старейшим учебным заведением в Республике Беларусь, ведущим подготовку врачей ветеринарной медицины, ветеринарно-санитарных врачей, провизоров ветеринарной медицины и зооинженеров.

Вуз представляет собой академический городок, расположенный в центре города на 17 гектарах земли, включающий в себя единый архитектурный комплекс учебных корпусов, клиник, научных лабораторий, библиотеки, студенческих общежитий, спортивного комплекса, Дома культуры, столовой и кафе, профилактория для оздоровления студентов. В составе академии 5 факультетов: ветеринарной медицины; биотехнологический; повышения квалификации и переподготовки кадров агропромышленного комплекса; заочного обучения; довузовской подготовки профориентации и маркетинга. В ее структуру также входят Аграрный колледж УО ВГАВМ, филиалы в г. Речице Гомельской области и в г. Пинске Брестской области, первый в системе аграрного образования НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии (НИИ ПВМиБ).

В настоящее время в академии обучается около 6 тысяч студентов, как из Республики Беларусь, так и из стран ближнего и дальнего зарубежья. Учебный процесс обеспечивают около 350 преподавателей. Среди них 7 академиков и членов-корреспондентов Национальной академии наук Беларуси и ряда зарубежных академий, 24 доктора наук, профессора, более чем две трети преподавателей имеют ученую степень кандидатов наук.

Помимо того, академия ведет подготовку научно-педагогических кадров высшей квалификации (кандидатов и докторов наук), переподготовку и повышение квалификации руководящих кадров и специалистов агропромышленного комплекса, преподавателей средних специальных сельскохозяйственных учебных заведений.

Научные изыскания и разработки выполняются учеными академии на базе НИИ ПВМиБ, 24 кафедральных научно-исследовательских лабораторий, учебно-научно-производственного центра, филиалов кафедр на производстве. В состав НИИ входит 7 отделов: клинической биохимии животных; гематологических и иммунологических исследований; физико-химических исследований кормов; химико-токсикологических исследований; мониторинга качества животноводческой продукции с ПЦР-лабораторией; световой и электронной микроскопии; информационно-маркетинговый. Располагая уникальной исследовательской базой, научно-исследовательский институт выполняет широкий спектр фундаментальных и прикладных исследований, осуществляет анализ всех видов биологического материала (крови, молока, мочи, фекалий, кормов и т.д.) и ветеринарных препаратов, что позволяет с помощью самых современных методов выполнять государственные тематики и заказы, а также на более высоком качественном уровне оказывать услуги предприятиям агропромышленного комплекса. Активное выполнение научных исследований позволило получить сертификат об аккредитации академии Национальной академией наук Беларуси и Государственным комитетом по науке и технологиям Республики Беларусь в качестве научной организации.

Обладая большим интеллектуальным потенциалом, уникальной учебной и лабораторной базой, вуз готовит специалистов в соответствии с европейскими стандартами, является ведущим высшим учебным заведением в отрасли и имеет сертифицированную систему менеджмента качества, соответствующую требованиям ISO 9001 в национальной системе (СТБ ISO 9001 – 2009).

www.vsavm.by

210026, Республика Беларусь, г. Витебск, ул. 1-я Доватора, 7/11, факс (0212)37 02 84, тел. 53 80 61 (факультет довузовской подготовки, профориентации и маркетинга); 37 06 47 (НИИ); E-mail: vsavmpriem@mail.ru.

Ответственный за выпуск А. А. Белко
Технический редактор и Е. А. Алисейко
компьютерная верстка
Корректор Т. А. Драбо

Подписано в печать 23.06.2015. Формат 60x84/16. Бумага офсетная.
Ризография. Усл. п. л. 17,50. Уч.-изд. л. 33,70. Тираж 100 экз. Заказ № 1530.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета»
государственная академия ветеринарной медицины».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/ 362 от 13.06.2014.
ЛИ №: 02330/470 от 01.10.2014 г.
Ул. 1-я Доватора, 7/11, 210026, г. Витебск.
Тел.: (0212) 35-99-82.
E-mail: rio_vsavm@tut.by
<http://www.vsavm.by>

