

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

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

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

Том 48, выпуск 2, часть I
(июль-декабрь) 2012 г.

Редакционная коллегия:

Ятусевич А.И. — доктор ветеринарных наук, профессор (главный редактор);
Кузьмич Р.Г. — доктор ветеринарных наук, профессор (зам. гл. редактора);
Алисейко Е.А. — ответственный секретарь.

Члены коллегии:

Субботин А.М. — доктор биологических наук, доцент;
Братушкина Е.Л. — кандидат ветеринарных наук, доцент;
Великанов В.В. — кандидат ветеринарных наук, доцент;
Мотузко Н.С. — кандидат биологических наук, доцент;
Олехнович Н.И. — кандидат ветеринарных наук, доцент;
Сучкова И.В. — кандидат биологических наук, доцент;
Толкач Н.Г. — кандидат ветеринарных наук, доцент.

Редакционный совет:

Гусев А.А. — доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАСХН (г. Минск, РДУП «ИЭВ им. С.Н. Вышелесского»);
Красочко П.А. — доктор ветеринарных наук, профессор (г. Минск, РДУП «ИЭВ им. С.Н. Вышелесского»);
Курдеко А.П. — доктор ветеринарных наук, профессор (г. Горки, УО БГСХА);
Лазовский А.А. — доктор сельскохозяйственных наук, профессор (г. Витебск, УО ВГАВМ);
Лемеш В.М. — 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, РДУП «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);
Холод В.М. — доктор биологических наук, профессор (г. Витебск, УО ВГАВМ);
Шляхтунов В.И. — доктор сельскохозяйственных наук, профессор (г. Витебск, УО ВГАВМ);
Шейко И.П. — доктор сельскохозяйственных наук, профессор (г. Жодино, РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству»).

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

Все статьи рецензируются.

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

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 978-985-512-670-7

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), выписку кафедры (структурного подразделения, организации) о рекомендации к публикации в журнале представляется 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, правое, верхнее и нижнее поле – по 20 мм. На первой строке – УДК. Ниже – название статьи прописными буквами (жирным шрифтом) по центру строки, без переноса слов. Ниже через пробел – строчными буквами фамилия и инициалы авторов (желательно не более 5-ти). Ниже – строчными буквами – название учреждения, город, страна. Ниже курсивом – аннотация на русском и английском языках. Далее через пробел, с абзацного отступа в 1,0 см располагается текст статьи. Ниже через пробел курсивом (размер букв 8 pt) - список использованной литературы (не менее 8 источников).

Статья должна иметь следующие подразделы, которые выделяются жирным: **введение, материалы и методы исследований, результаты исследований, заключение; а литература** - размер букв 8 pt и выделяется жирным курсивом. Заключение должно быть завершено четко сформулированными выводами.

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

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

Статьи будут дополнительно рецензироваться и редактироваться. Редакционный совет оставляет за собой право отклонять материалы, которые не соответствуют тематике и оформлены с нарушением правил.

Пример оформления:

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

ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭНТЕРОСПОРИНА ПРИ ДИСПЕПСИИ НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Папуниди К.Х., Закирова Г.Ш., Тремасов М.Я.

ФГУ «Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных»,
г. Казань, Российская Федерация

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.

Введение. Профилактика желудочно-кишечных болезней приобретает ...

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

Результаты исследований. Для изучения содержания микрофлоры в...

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что...

Литература. 1. Малик, Н.И. Пробиотики: теоретические и практические аспекты / Н.И. Малик, А.Н. Панин // Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2. Самоник, К.В. Меры борьбы с криптоспоридиозом

Заболевания животных заразной этиологии

УДК 619:616.993.1-053.2

КРИПТОСПОРИДИОЗ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, СВИНЕЙ И КУР

Бородин Ю.А., Нестерович С.Г., Сарака А.М.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Проводится анализ инвазированности и интенсивности инвазии животных криптоспоридиями. На основе анализа динамики и сроков выделения ооцист криптоспоридий описаны клинические признаки болезни. Приведен анализ изменений морфологического состава крови. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о значительном снижении естественной реактивности организма животных.

Приведены также лекарственные препараты, применяемые при криптоспоридиозе, даны рекомендации для дезинвазии помещений.

The analysis of invasion and intensity of infection of animals Cryptosporidium. Based on the analysis of the dynamics and timing of release of cryptosporidium oocysts describes clinical signs of disease. The analysis of morphological changes in the blood. The experimental data show a significant reduction in the natural reactivity of animals.

Are also drugs used in cryptosporidiosis, are recommendations disinfection facilities.

Введение. За последние десятилетия интенсивная антропогенная нагрузка на объекты окружающей среды заметно ухудшила экологическую ситуацию в Беларуси. Создание крупных птицеводческих и животноводческих предприятий обусловило необходимость пересмотра взглядов на сложившуюся в нашей стране напряженную эпизоотологическую ситуацию по паразитарным болезням.

Улучшение диагностики и ухудшение экологической ситуации в отдельных регионах страны, обуславливающие нарушение защитных механизмов макроорганизма, неуклонно расширяют спектр потенциальных патогенов домашних животных и птиц.

Появился ряд новых экологических и клинических проблем, многие из которых не решены до настоящего времени. Среди них можно выделить значительный рост кишечных протозойных заболеваний, приводящих к падежу молодняка, и необходимость защиты поголовья от них. В настоящее время широко распространенным протозойным заболеванием среди молодняка является криптоспоридиоз.

Устойчивость во внешней среде, хозяйственная специфичность, аутоинвазирование, течение криптоспоридиоза в ассоциации с бактериальными и вирусными инфекциями и многие другие аспекты заболевания привлекают все большее внимание ветеринарных специалистов. Возникновение заболевания при неблагоприятных условиях, постоянное персистирование в организме криптоспоридий и снижение общей резистентности организма заставляет вести поиск новых лекарственных средств и способов борьбы с криптоспоридиозом.

Криптоспоридии обладают большой репродуктивной способностью. Персистирование ооцист криптоспоридий обусловлено высокой степенью размножения паразита и его устойчивостью в виде ооцист во внешней среде: инвазионная активность может сохраняться от 4 до 16 месяцев. Определенная роль в эпидемиологии принадлежит также бродячим животным и синантропным птицам.

Поскольку ооцисты обнаруживаются почти исключительно в фекалиях, основным путем передачи возбудителя является фекально-оральный. Описан воздушно-капельный путь передачи криптоспоридий. Благодаря наличию плотной оболочки у ооцисты можно предположить наличие непрямого пути передачи возбудителя через загрязненные предметы ухода, клетки, кормушки, корма, воду, полы и другие покрытия помещений.

Нарушение санитарно-ветеринарных и зоогиgienических норм и правил содержания животных и птиц обеспечивает распространение криптоспоридиозной инвазии. Стрессы, вирусные и бактериальные инфекции – это факторы, способствующие обострению криптоспоридиоза. Стационарность обусловлена наличием криптоспоридионосительства, аутоинвазией и устойчивостью паразитов во внешней среде.

Криптоспоридиоз как моноинвазия встречается нечасто. Наличие смешанных инвазий затрудняет однозначную оценку действительного участия в патологическом процессе каждого из компонентов сложившегося паразитоценоза и приводит к большому экономическому ущербу в связи с тяжелым течением и исходом заболевания. Борьба с паразитоценозами затруднена, поскольку в каждом хозяйстве паразиты, составляющие паразитоценоз, весьма разнообразны.

Материалы и методы. При жизни у животных и птицы исследовали фекальные массы, посмертно – содержимое и соскобы со слизистой оболочки кишечника. Для выявления криптоспоридий использовали окрашивание мазков фекалий карболовым фуксином по Цилю-Нильсену с последующим изучением препаратов с помощью иммерсионной системы микроскопа.

Результаты исследований. При изучении мазков фекалий от различных групп крупного рогатого скота и свиней зачастую криптоспоридии выявляли у животных до 30-дневного возраста. При обследовании цыплят напольного содержания ооцисты криптоспоридий обнаруживали уже с 20-дневного возраста, а при клеточном содержании - с 9-дневного возраста, максимальная экстенсивность проявлялась на 35-40 день откорма. У взрослой птицы криптоспоридии обнаружены не были.

Уровень инвазированности и интенсивность инвазии животных криптоспоридиями достигает до 50-70%. Во всех случаях выявления криптоспоридий у животных интенсивность инвазии довольно высокая (от 100 до 340 ооцист в 20 полях зрения микроскопа).

Важнейшим показателем взаимоотношений в системе «паразит–хозяин» является паразитарная реакция. Следует отметить что, несмотря на значительное количество исследований по проблеме криптоспориديозов, особенности биологии паразитов изучены недостаточно. Поэтому очень важно выяснить сроки эндогенного развития криптоспоридий, т.к. в основе борьбы с этой инвазией должно быть знание их биологии.

Как показывают проведенные нами исследования, после инвазирования поросят единичные ооцисты были обнаружены уже на 4-й день после заражения. В дальнейшем количество выделяемых ооцист возрастало, достигнув максимальной величины на 9-й день. В последующие дни количество их начало уменьшаться. На 22-й день были выявлены единичные ооцисты, а в дальнейшем в течение всего периода наблюдений их не обнаружили.

На основе анализа динамики и сроков выделения ооцист криптоспоридий можно заключить, что препатентный период (от момента заражения до начала выделения первых ооцист) у криптоспоридий составляет 4 суток, а патентный период -18 суток.

Наряду с учетом паразитарной реакции велись наблюдения за развитием клинических признаков болезни. В течение первых 2-х суток общее состояние инвазированных поросят было в пределах физиологической нормы. На 3-й день у поросят несколько ухудшилось общее состояние, снизилась активность и поедаемость корма. Температура тела без изменения. На следующий день поросята отказались от корма. Стали неохотно подниматься. Фекалии несколько разжижены. В последующие дни поросята полностью отказывались от корма, не подымались, наблюдался понос. Повысилась температура тела (40,2-40,3°C). Один поросёнок пал. На вскрытии обнаружили катарально-геморрагическое воспаление слизистой оболочки тонкого кишечника и катаральное – толстого. Отмечалась дистрофия паренхиматозных органов. Тяжелое клиническое состояние поросят продолжалось до 11-го дня с момента заражения. Затем состояние поросят постепенно улучшилось и к 14-му дню было удовлетворительным. Однако и последующие дни поросята опытной группы по своему клиническому состоянию, росту и развитию заметно отличались от животных контрольной группы. Среди последних в течение всего опыта отклонений в клиническом состоянии не отмечено. Переболевание криптоспоридиозом отрицательно сказалось и на приростах массы поросят, которые в опытной группе были 258 граммов в сутки, в контрольной – 330 граммов.

Анализ изменений морфологического состава крови показывает, что наблюдается уменьшение количества эритроцитов (на 32,8%), гемоглобина (на 43,5%). Затем количество гемоглобина в крови у подопытных животных повысилось, тем не менее к концу опыта по-прежнему оставаясь низким.

Исследуя лейкоцитарную реакцию у животных раннего возраста на криптоспоридиозную инвазию можно отметить, что заметный лейкоцитоз в крови у подопытных животных начинает наблюдаться на шестой день и становится максимальным на 17 день после заражения.

Данные лейкограммы показывают, что у больных животных отмечается эозинофилия (уровень эозинофилов увеличился в 2,6 раза).

Анализ количества общего белка крови свидетельствует о том, что в процессе переболевания криптоспоридиозом в ней уменьшается количество общего белка на третий день после заражения, достоверное понижение количества общего белка отмечается на 6-й день после заражения и достигает минимального уровня на 9-й день, что составляет к уровню его в контрольной группе всего 68,9%. Затем количество общего белка в сыворотке крови у зараженных животных начинает медленно повышаться и к концу опыта превышает показатели контроля.

Исследуя уровень бактерицидной активности сыворотки крови больных криптоспоридиозом животных, можно сделать заключение, что под влиянием возбудителя заболевания она понижается начиная с третьего дня эксперимента и остается низкой. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о значительном снижении естественной реактивности организма животных.

Изучение активности лизоцима сыворотки крови у поросят опытной группы показало достоверное её снижение.

Анализ уровня фагоцитарной активности нейтрофилов показал, что под влиянием криптоспоридиозной инвазии её уровень понижается в 2,1 раза.

Исследование динамики щелочной фосфатазы в сыворотке крови показало, что уровень её активности у больных животных уменьшился в 1,5-2 раза.

Якубовский М.С. с соавт. рекомендуют при криптоспоридозе телятам назначать сульфадимезин в дозе 0,1 г/кг массы два раза в день в течение 6 дней. Можно использовать сочетание сульфадимезина в дозе 0,1 г/кг и ампролиума в дозе 0,2 г/кг живой массы в течение 5 дней; химкокцид –7 в дозе 0,04 г/кг два раза в день в течение 4 дней химкокцид –7 в дозе 1 г на теленка один раз в день за 1 час до выпаивания молозива и полимиксин из расчета 0,004 г/кг три раза в день.

Поросятам при криптоспоридозе перорально применяют сульфадимезин в дозе 0,05 г/кг двукратно в течение 6 дней одновременно с фумаровой кислотой в дозе 0,1 г/кг однократно в течение 5 дней; сульфадиметоксин в дозе 50 мг/кг один раз в день в течение 5 дней. Поросятам применяют также биофарм (биофрам) в дозе 0,2 г/кг массы животного, два раза в день в течение 6 дней (курсом лечения). Химкокцид поросятам применяют перорально в дозе 30 мг/кг массы животного два раза в день в течение 6 дней.

Цыплятам при криптоспоридиозе назначают сульфадимезин по 3,75 г на 1 л воды в качестве питья в первые 10-14 суток; сульфаквиноксалин по 160 мг/кг массы тела в течение 10 дней; полимиксин М в дозе 30-40 тыс. ЕД с фуразолидоном из расчета 6-10 мг на кг массы животного в течение 5-6 дней.

Нами также изучалась терапевтическая эффективность препарата ампробел при криптоспоридиозе телят. Телятам с характерными клиническими признаками криптоспоридиоза (диарея, дегидратация), подтвержденным лабораторно методом Циля-Нильсена, задают внутрь ампробел в дозе 0,04 г/кг массы

тела в течение 5 дней. При этом на 5 день в исследуемых пробах фекалий ооцисты криптоспоридий не обнаруживались.

Применяли также настойку незрелых орехов или листьев ореха маньчжурского. Препарат применяется в виде 10% спиртовой настойки в дозе 20 мл на прием внутрь два раза в день в течение 7 дней. Лекарственным сырьем служат листья, околоплодники, зеленые и зрелые орехи.

Препараты ореха маньчжурского обладают бактерицидным, общеукрепляющим, противосклеротическим, вяжущим, противопаразитарным, умеренно кровоостанавливающим, противовоспалительным, противоглистным, ранозаживляющим и эпителизирующим действием.

Благодаря высокому содержанию непредельных жирных кислот орехи при систематическом употреблении в пищу оказывают весьма положительное действие и весьма полезны при упадке питания, так как богаты жирным маслом и белком.

Преимуществом предложенного способа лечения криптоспориоза телят является простота применения, эффективность действия, умеренная стоимость препарата. Настойка не содержит компонентов, способных накапливаться в организме животных. Эффективность составляет 90%, при этом не сопровождается побочными негативными явлениями.

Испытанные препараты улучшают функцию желудочно-кишечного тракта и значительно способствуют снижению интенсивности инвазии. При этом отрицательного влияния лекарственных препаратов на организм животных не установлено.

Так как путями передачи криптоспориоза являются загрязненные ооцистами этих паразитов предметы ухода, клетки, кормушки, корма, полы, другие покрытия помещений для дезинвазии рекомендуем использовать препарат фармайод. С этой целью клетки, где содержались телята, интенсивно инвазированные криптоспоридиями, после предварительной очистки подвергали дезинвазии 3%-ным раствором фармайода, при норме расхода раствора 1л/м². В результате в соскобах и смывах с объектов внешней среды ооцист криптоспоридий не обнаруживали.

Заключение:

1. Заражение животных раннего возраста криптоспоридиями сопровождается активной паразитарной реакцией организма хозяина и симптомокомплексом, характерным для заболевания органов пищеварения. У больных животных наблюдаются эритропения, гемоглобинемия, лейкоцитоз, зоинофилия, а в процессе переболевания криптоспориозом установлено резкое снижение показателей естественной резистентности и иммунной реактивности, а также активности щелочной фосфатазы.

2. Для лечения животных рекомендуем применять ампробел в дозе 0,04 г/кг массы тела в течение 5 дней; 10% спиртовую настойку незрелых орехов или листьев ореха маньчжурского в дозе 20 мл на прием внутрь два раза в день в течение 7 дней.

3. Для дезинвазии рекомендуем применять 3%-ный фармайод при норме расхода раствора 1 л/м².

Литература. 1. Лекарственные средства в ветеринарной медицине : справочник / А. И. Ятусевич, Н. Г. Толкач, И. А. Ятусевич, Е. А. Панковец. – Минск : Техноперспектива, 2006. – 403 с. 2. Меры борьбы с криптоспориозом свиней : рекомендации / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Учреждение образования "Витебская государственная академия ветеринарной медицины". – Витебск, 2002. – 11 с. 3. Криптоспориоз животных : (рекомендации по диагностике, терапии и профилактике) / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск, 2000. – 19 с. 4. Лекарственные растения в ветеринарии / А.И. Ятусевич [и др.] // Белорусское сельское хозяйство. – 2008. – № 11. – С. 43-47. 5. Ветеринарно-санитарные мероприятия по профилактике и ликвидации паразитарных заболеваний животных (метод. указания), утв. ГУВ МСХ РБ 11.09.2007 г., №10-1-5/1011 ; сост.: А.И. Ятусевич, И.Н. Дубина, И.А. Ятусевич, Е.Б. Криворучко. – Витебск, 2008. – 51 с.

Статья передана в печать 03.09.2012 г.

УДК: 619:08.4535/088.8/

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНЫЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА СПЕРМЫ БЫКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СЕЗОНА ГОДА И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИБИОТИКАМ

Музыка В. П., Атаманюк И. Е., Паныч А. П., Чайковская А. И., Кушнир И. М.

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

Установлена тесная связь между степенью бактериального загрязнения спермы и ее оплодотворяющей способностью. Сперма после кратковременного или длительного хранения, при отсутствии противомикробной обработки, может иметь бактериальное загрязнение, превышающее ветеринарно-санитарные требования. В связи с этим для подавления развития микрофлоры, снижения степени микробного загрязнения спермы в процессе ее хранения в состав защитных сред необходимо вводить антибактериальные препараты. При этом необходимо учитывать, что санитарные и биологические показатели качества спермы быков изменяются в процессе ее технологической обработки, хранения и сезона года. Подбор эффективных противомикробных препаратов для санации спермы имеет важное значение для усовершенствования биотехнологии воспроизводства с.-х. животных.

The close relationship between the degree of bacterial contamination of semen and its fertilizing ability is

determined. Semen after a short or long-term storage in the absence of antimicrobial treatment may have bacterial contamination in excess of Veterinary-sanitary requirements. Therefore, to suppress the growth of microflora, to reduce the degree of microbial contamination in the process of sperm storage, it is necessary to introduce into the protective environment an anti-bacterial preparations. Its also necessary to consider that sanitary and biological qualities of bull semen changes during its technological processing, storage and season. Selection of effective antimicrobial agents for the renovation of sperm is essential for the improvement of farm animals reproductive biotechnology.

Введение. В последнее время большинство исследователей указывает на существующую связь между степенью бактериального загрязнения спермы и ее оплодотворяющей способностью [1], при этом 80 % абортос у коров связано с условно-патогенной инфекцией, обусловленной различными бактериями и грибами, которые попадают в половую систему самок со спермой. Стельность часто прекращается на эмбриональном этапе что получило название эмбриональной смертности, у коров часто бывает задержка последа, вызванная воспалением слизистой оболочки матки [1–3.] Доказано, что одной из причин массовых абортов, бесплодия коров могут быть инфекционные и неинфекционные заболевания, вызываемые микроорганизмами, которые проникают в половой тракт и плаценту.

Количество бактерий в эякуляте может быть значительно снижено при несоблюдении санитарных правил получения спермы и осеменения самок, однако ни один из существующих методов получения спермы от животных не гарантирует полной ее стерильности. Если учитывать, что сперма используется не сразу после получения, а после кратковременного или длительного хранения, технологической обработки, то становится понятным, что при отсутствии санации сперма будет иметь бактериальное загрязнение, превышающее ветеринарно-санитарные требования [4, 5].

Санация спермы не всегда приводит к желаемому результату в связи с тем, что некоторые препараты или неэффективны или являются токсичными для спермиев. Длительное применение бактерицидных препаратов в средах для разбавления спермы может способствовать развитию резистентных штаммов микроорганизмов [6]. Важным моментом при этом является исследование санитарного состояния спермы в процессе технологической обработки, изучение влияния сезонов года на ее санитарное качество и биологические показатели [7-9].

Исходя из этого, нами проведены исследования микробного загрязнения спермы быков с момента получения и до замораживания, изучения видового состава микрофлоры, биологических свойств спермиев в разные сезоны года, а также изучение чувствительности выделенных микроорганизмов к антибиотикам.

Материалы и методы исследований. Работа проводилась в лаборатории контроля препаратов, применяемых при незаразных заболеваниях. В опытах использовали сперму 35 быков, полученную на укороченную, асептически приготовленную искусственную вагину, сперму замороженную в открытых гранулах. Исследовали свежеполученную сперму, разбавленную ЛГЖ средой с добавлением Декомсана (санирующего препарата для спермиев быков) до и после эквilibрации. Подопытные животные в течение экспериментальных исследований были клинически здоровыми, пользовались ежедневно моционом. Из спермоприемника пробы спермы с соблюдением правил асептики, переносили в стерильные флаконы, исследования проводились не позднее, чем через 3 часа после отбора проб.

В такой же последовательности отбирали пробы замороженной спермы из спермохранилища. При исследовании общей микробной загрязненности, колититра спермы быков исследуемую сперму разводили физиологическим раствором в соотношении 1:10, а затем проводили последовательные десятикратные разведения 1:100, 1:1000 и т.д., в зависимости от ожидаемой степени загрязнения исследуемых объектов. Из каждого разведения по 0,5 или 1 см³ пробы высевали на чашки Петри с мясо-пептонным агаром, инкубировали при 37,5 °С в течение 48 часов. Перед проведением исследований физиологический раствор, среда для разбавления, лабораторная посуда подвергались стерилизации.

Выделение и идентификацию микроорганизмов проводили общепринятыми методами. После выделения микроорганизмы исследовали на чувствительность к отдельным антибиотикам с использованием стандартных наборов бумажных дисков. При изучении биологических показателей спермы быков исследовали: объем эякулята, концентрацию спермиев, подвижность спермиев, показатель абсолютной выживаемости спермиев согласно ГОСТ 20909.4-75.

Подвижность спермиев (P) в баллах рассчитывали по формуле:

$$P = (n1 \div 10) / n,$$

где: n – общее число подсчитанных спермиев;

n1 – количество подсчитанных спермиев с прямолинейным поступательным движением;

10 – постоянный коэффициент.

Показатель абсолютной выживаемости спермиев (S) вычисляли по формуле:

$$S = a1 + \sum (at),$$

где: \sum – сумма;

a - подвижность спермы за интервалы времени, баллы;

a1 - подвижность спермы после разбавления, баллы

t - последовательные интервалы времени между проверками подвижности спермиев, час;

Результаты исследований. Для изучения микробной загрязненности спермы быков в сезонном аспекте, а также в процессе технологической обработки спермы от каждого быка в зимне-весенний, летний и осенний периоды получали по 5 эякулятов (табл. 1).

Таблица 1

Микробная загрязненность спермы быков в зависимости от сезонов года и технологического процесса, КОЕ, см³

Показатели спермы	Сезоны года		
	Зимне-весенний	Летний	Осенний
Нативная	2,8 x 10 ⁴	1,6 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁴
Разбавленная до эквilibрации	4,8 x 10 ⁴	5,2 x 10 ⁴	2,2 x 10 ⁴
Разбавленная после эквilibрации	1,7 x 10 ⁴	1,4 x 10 ⁴	700
Заморожено-оттаянная	480	340	250

Полученные данные показали, что микробная загрязненность нативной спермы была самой высокой в зимне-весенний период года и составила 2,8 x 10⁴ КОЕ. см³ (колониеобразующие единицы).

В летний период соответственно 1,6x10⁴ КОЕ. см³, в осенний-1,2x10⁴ КОЕ. см³.

В процессе разбавления и эквilibрации микробная загрязненность существенно снижалась.

Исследование заморожено-оттаянной спермы показали, что микробная обсемененность была самой высокой – 480 КОЕ. см³ в зимне-весенний период года; средней - 340 КОЕ. см³ в летний период; низкой - 250 КОЕ. см³ в осенний. Анализ образцов как нативной, так и разбавленной спермы показал, что чаще выделяли бактерии группы *E coli* 32 % (нативная) и 18 % (разбавленная), *Streptococcus spp.* 28 % и 12 %, *Staphylococcus spp.* 20 % и 11 %, *P aeruginosa* 16 % и 10 %, *B subtilis* 8 % и 4 %, соответственно.

Параллельно проводились исследования нативной спермы по биологическим показателям - объем эякулята, концентрация спермиев, подвижность, абсолютная выживаемость спермиев в зависимости от сезонов года.

Таблица 2

Биологические показатели качества нативной спермы быков в зависимости от сезона года

Сезоны года	Показатели			
	Объем эякулята (см ³)	Концентрация спермиев (млрд.см ³)	Подвижность (баллы)	Показатель абсолютного выживания (S)
Зимне-весенний	3,04	1,15	8,4	997
Летний	5,01	1,40	8,7	1025
Осенний	4,56	1,25	8,8	1178

Объем эякулятов был наибольшим в летний период - 5,01 см³ и наименьшим – в зимне-весенний период - 3,04 см³. Концентрация спермиев была самой высокой в летний период - 1,40 млрд.см³, низкой - 1,15 млрд.см³ в зимне-весенний период года. Абсолютная выживаемость спермиев была самой высокой - 1178 в осенний период и самой низкой - 977 в зимне-весенний периоды. При изучении чувствительности микроорганизмов-контаминантов спермы к антибиотикам установлено, что наибольшую зону задержки роста проявляли ципрофлоксацин (31±6,2 мм), цефазолин (28±7,3мм), цефатоксим (27±6,4мм), цефалексин (26,5±3,6мм). Такие антибиотики, как энрофлоксацин, гентамицин, хлорамфеникол проявляли в основном одинаковые зоны задержки роста 24,4 ± 3,2, 24,2 ± 3,1, 22,5 ± 2,1мм, соответственно. Ампициллин (18,9 ± 1,8 мм) и стрептомицин (16,4 ± 2,0 мм) были менее эффективными. Совсем не задержали рост микроорганизмов пенициллин и амоксициллин.

Таблица 3

Зоны задержки роста культур микроорганизмов, выделенных из спермы быков

Диски антибиотиков	Зоны задержки роста
Ципрофлоксацин	30,1 ±6,2
Цефазолин	28±7,3
Цефатоксим	27±6,4
Цефалексин	26,5±3,6
Энрофлоксацин	24,4±3,2
Гентамицин	24,2±3,1
Хлорамфеникол	22,5±2,1
Ампициллин	18,9±1,8
Стрептомицин	16,4±2,0
Пенициллин	0
Амоксициллин	0

Заключение. Проведенными исследованиями установлена тесная связь между степенью бактериального загрязнения спермы и ее оплодотворяющей способностью. Сперма после кратковременного или длительного хранения, при отсутствии противомикробной обработки может иметь бактериальное загрязнение, превышающее ветеринарно-санитарные требования. В связи с этим для подавления развития микрофлоры, снижения степени микробного загрязнения спермы в процессе ее хранения в состав защитных сред необходимо вводить антибактериальные препараты. При этом необходимо учитывать, что санитарные и биологические показатели качества спермы быков изменяются в процессе ее технологической обработки, хранения и сезона года. Подбор эффективных противомикробных препаратов для санации спермы имеет важное значение для усовершенствования биотехнологии воспроизводства с.-х. животных.

Литература. 1. Логвинов Д. Д. О массовости патологических родов у первотелок // Зоотехния. - 1993. - № 1. - С.39-40. 2. Петрянин Ф. П., Зудилин В. А. Бактериальная контаминация спермы быков. Ветеринария. - 1976. - №7. - С. 84-85. 3. Михайлов Н. Н., Чистяков И. Я., Зудилин В. А. Роль условно-патогенной микрофлоры в этиологии нарушения репродуктивной функции у животных. Мат. конф. по профилактике бесплодия сельскохозяйственных животных на Северном Кавказе. Новочеркасск. - 1974. - С. 35-38. 4. Рожко М. С. Влияние условно-патогенной микрофлоры на жизнеспособность спермы бугаев *in vitro* // Науковий вісник БАДУ. - 2000. - ч.1. - С. 37-40. 5. Балашов Н. Г. Ветеринарный контроль препаратов искусственного осеменения животных. - М.: Колос. - 1980. - С. 146. 6. . Новый saniрующий препарат для спермы быков воспроизводителей / А.И.Сергиенко, М.В.Косенко, Н.С.Рожко и др.// Тез. докл. Всеросс. науч. и учеб.-метод. конф. по акушерству и гинекологии и биотехнологии разм. животных. 7. Косенко М. В. Диспансеризация в системе профилактики неплідності і контролю відтворювальної функції сільсько-господарських тварин.-Київ. Урожай. - 1995. - С.184-188. 8 Косенко М. В., Сергієнко О. І., Атаманюк І. Є. Удосконалення методів санації сперми бугаїв // Матеріали науково-практичної конференції, м. Біла церква, 1997. – С. 50-53. 9 Косенко М. В. Диспансеризация в системе профилактики неплідності і контролю відтворювальної функції сільськогосподарських тварин. – Київ: Урожай. - 1995. - С.184-188.

Статья передана в печать 06.09.2012 г.

УДК 619:616.99:636.5

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ В БОРЬБЕ С ЭЙМЕРИОЗОМ КУР

Музыка В. П., Стецко Т. И., Калинина О. И., Мурская С. Д.

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

В статье приведены основные подходы к борьбе с эймериозом кур, в основном заключающиеся в проведении химиофилактики и иммунопрофилактики, проанализированы их преимущества и недостатки. Сделан анализ зарегистрированных в Украине препаратов для лечения и профилактики кокцидиоза птицы.

The article presents basic approaches to overcoming of poultry eimeriosis that lie in conduct of chemoprophylaxis and immunoprophylaxis, their analyzed advantages and disadvantages. Analysis of registered medicinal products for treatment and prophylaxis of poultry coccidiosis is conducted.

Введение. Эймериоз (кокцидиоз) является реальной проблемой и одним из самых распространенных заболеваний птицы в мире. Это предопределено тем, что возбудители заболевания, а это простейшие рода *Eimeria*, проникают в эпителий кишечника, вызывая энтерит и диарею. Птица не способна усваивать питательные вещества корма, что приводит к низким темпам роста, повышению конверсии корма, а в конечном итоге - к массовой гибели птицы.

При вспышках эймериоза на птицефабриках смертность может достигать 25-40%, снижаются среднесуточные приросты на 5-10%, повышается конверсия корма на 7-12%. Часто заболевание протекает в субклинической форме, когда на первый взгляд птица здорова, однако падают приросты и растет отношение количества затраченного корма на единицу прироста живой массы, а возобновление этих показателей, даже в реабилитационный период после лечения, проходит очень медленно. Некоторые партии бройлеров никогда полностью не могут достичь своего производственного потенциала. Кокцидии могут также негативно влиять на иммунную систему, делая птицу более уязвимой для патогенных микроорганизмов, таких как *Clostridium*, *Salmonella*, *Campylobacter* и *E. coli*. В целом эймериоз считается одним из самых тяжелых для здоровья домашней птицы заболеваний, которое вызывает огромные экономические потери производителей домашней птицы по всему миру [1].

Возбудители эймериоза - одноклеточные паразитические простейшие рода *Eimeria* со сложным циклом развития, одна стадия которого (эндогенная) протекает в организме птиц и заканчивается формированием ооцист, а другая (экзогенная) - во внешней среде. Из организма птиц ооцисты выделяются неинвазионными. При наличии кислорода, влажности и тепла (18 - 29° С) они становятся инвазионными уже через 24-96 час. Инвазионные ооцисты попадают в пищеварительный тракт птиц с кормом или водой, оболочка их разрушается, освобожденные спорозоиты проникают в эпителиальные клетки кишечника и начинают интенсивно размножаться. Чем глубже паразит проникает в стенку кишечника, тем больше вреда он наносит.

У кур чаще всего паразитируют семь видов эймерий: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. tenella*, *E. necatrix*, *E. praecox*. Они отличаются локализацией, вирулентностью, иммуногенностью, репродуктивной способностью и чувствительностью к антикокцидийным препаратам. Обычно моновидовая инвазия почти не регистрируется, чаще у кур паразитируют одновременно несколько видов эймерий, к тому же не все виды вызывают гибель птицы или заболевание, но все они приводят к потере производительности.

Источниками возбудителя кокцидиоза является инфицированная птица и эймерионосители, а путь инфицирования - алиментарный. Заболевание передается через контаминированные ооцистами подстилку (у бройлеров), воду, кормы, оборудование, а также через грызунов и обслуживающий персонал. Самый благоприятный период для распространения эймериоза птицы на небольших фермах - весна и лето, а на птицефабриках - все времена года при несоблюдении ветеринарно-санитарных требований [2].

Предыдущий диагноз на эймериоз ставят на основании эпизоотологических данных, клинических признаков заболевания, характерных патологоанатомических изменений и результатов микроскопических

исследований фекальных масс или содержимого кишечника погибшей птицы. Окончательный диагноз ставят на основании выявления ооцист или эндогенных стадий развития эймерий.

Все мероприятия борьбы по эймериозу птиц разделяются на две группы. Задача первых – не допустить инфицирования птицы экзогенными стадиями эймерий – ооцистами, другие мероприятия направлены на борьбу с эндогенными стадиями. Борьба с экзогенными стадиями эймерий заключается в проведении ветеринарно-санитарных мероприятий, содержании птицы на сетчатом полу и применении специфических средств дезинвазии внешней среды и птицеводческих помещений, от ооцист (однохлористый йод, 7,5 % раствор аммиачной воды, сульфат аммония + гашеная известь, препараты суамдезин и Кенококс Клинер, и т.п.). Однако учитывая высокую стойкость ооцист к химическим, физическим способам влияния (ооциста имеет сложную липопротеиновую оболочку), высокую степень репродуктивности кокцидий (одна ооциста за 7-10 суток может дать начало от 88 тыс. до 2 млн. себе подобных), можно сделать вывод, что комплекс мероприятий, направленных на предупреждение болезни путем влияния на экзогенную стадию развития паразита, не может быть стопроцентно эффективным. Поэтому при угрозе вспышки заболевания прибегают к химиофилактике или вакцинации [3].

Для борьбы с эндогенными стадиями эймерий в наибольшей степени используют химиофилактические средства, которые тормозят или полностью приостанавливают формирование эндогенных форм кокцидий в организме птицы. К таким антикокцидийным препаратам относятся ионофорные кокцидиостатики. Это вещества, которые содержат полиэфирную группу и производятся путем ферментации определенными штаммами микроорганизмов рода *Streptomyces u Actinomadura*. К ним относятся такие кокцидиостатики: натрий монензин, натрий лазалоцид, аммоний мадурамицин, наразин, натрий салиномицин, натрий семдурамицин. Ионофорные антибиотики обладают кокцидиостатическим действием против внеклеточных неполовых форм (спорозоитов, мерозоитов) эндогенного развития эймерий у домашней птицы. Их антикокцидийное действие основано на способности формировать комплексы с моновалентными ионами основных металлов (калия и натрия), что делает клеточные мембраны проницаемыми для этих ионов во внутреннем и обратном направлении, таким образом изменяя концентрацию этих ионов в клетках эймерий. Для поддержки осмотического равновесия паразит вынужден тратить очень много энергии, что, в результате, приводит к переполнению клетки водой и ее гибели. Лишь Na лазалоцид способен транспортировать кроме одновалентных и двухвалентные ионы (Mg^{++} и Ca^{++}). Поскольку механизм действия ионофорных антибиотиков практически не отличается, у кокцидий к этим веществам часто возникает перекрестная резистентность [4].

Ионофоры, невзирая на их достаточно высокую антикокцидийную эффективность, сохраняют цикл некоторых эймерий, и этим способствуют выработке иммунитета. Это свойство, в сочетании с широким спектром действия, в том числе и на патогенные бактерии, которые отрицательно влияют на приросты и конверсию корма, делает эти препараты фаворитами в борьбе с кокцидиозом у бройлеров и ремонтного молодняка кур.

Другая группа антиэймерийных препаратов включает химически синтезированные препараты: декоквинат, робенидин гидрохлорид, клопидол, толтразурил, диклазурил, ампролиум и его производные зоален и никарбазин, диаверидин. Химические препараты эффективно действуют против всех видов эймерий, но их недостатком является то, что сопротивляемость у паразитов к их действию развивается быстрее, чем к ионофорам. Поэтому нужно избегать неконтролируемого увеличения доз при использовании химических кокцидиостатиков, потому что это может привести к возникновению эпизоотий [5].

Отдельной группой антикокцидийных средств, которая применяется в борьбе с эймериозом птицы лишь с лечебной целью, являются сульфаниламидные препараты (сульфамонотоксин, сульфадиметоксин, сульфадимезин, сульфадимидин, сульфаметоксазол, норсульфазол). Часто сульфаниламиды используются в комбинации с триметопримом (трисульфон, триметосул и т.п.).

Для профилактики эймериоза кур применяют лишь ионофорные антибиотики и кокцидиостатики, полученные химическим путем. При выращивании бройлеров, в зависимости от технологических условий, эти препараты применяют двумя программами: ротационной и челночной (так называемой «Шаттл» программой). При схеме ротации в течение 3-4 последовательных циклов выращивания применяют один препарат, потом переходят на другой. Желательно задействовать в программе до 4 препаратов. При их чередовании допускается замена химического кокцидиостатика на другой, с другим механизмом действия. Не рекомендуется лишь менять ионофор на ионофор. Главный недостаток ротационной программы – быстрое приспособление паразитов к препарату, который применяется, с последующим развитием длительной резистентности к его действию.

При программе "Шаттл" в одном цикле выращивания бройлеров применяют 2 препарата: один – до 27-30-суточного возраста (обычно это химический препарат), другой – до завершения откорма (ионофорный антибиотик). Использование ионофорных антибиотиков после химических положительно влияет на рост и развитие цыплят, поскольку естественные ионофоры владеют также и ростстимулирующим эффектом. В этой программе можно использовать и два химических препарата, но только не два ионофора. Через полгода их заменяют на другую пару [6].

При выращивании ремонтного молодняка кур целью профилактики кокцидиоза является не допустить развитие заболевания и создать у птицы иммунитет к эймериозу. Для этого используют препараты, которые не препятствуют выработке защитных сил организма птицы. Они подавляют кокцидии на более поздних стадиях эндогенного развития и даже дают возможность некоторым из них завершить эндогенный цикл и опять инвазировать хозяина. Эффективным является такой препарат как ампролиум и его производные (зоален, никарбазин).

Все антикокцидийные препараты в процессе применения со временем теряют свою эффективность через появление стойких к их действию генераций паразитов. Стойкость кокцидий к одним препаратам вырабатывается в течение нескольких недель, эффективность других измеряется годами, но, рано или

поздно развивается резистентность к любому применяемому кокцидиостатику. Поэтому внедрение антикокцидийной программы при научно-обоснованном и экспериментально проверенном чередовании ряда кокцидиостатиков, которые характеризуются минимальной перекрестной резистентностью, позволит минимизировать появление кокцидиостатикорезистентных штаммов эймерий, а также максимально долго использовать антикокцидийные препараты.

Нами был проведен анализ зарегистрированных в Украине препаратов для лечения и профилактики эймериоза у кур (табл 4).

Таблица 4

Антикокцидийные препараты для борьбы с эймериозом птиц, зарегистрированные в Украине по состоянию на 1.04.2012 г.)

Активно-действующее вещество	Лекарственная форма	Торговое название препарата	Страна – производитель
И О Н О Ф О Р Ы			
Натрий лазалоцид	порошок	Аватек [®] 150 Г.	Бельгия
Семдурамицин	порошок	Авиакс	Бразилия
Натрий салиномицин	микрогранулированный порошок	Биококс [®] 120 Г.	Италия
	гранулы	Кокцисан [®] 12 %	Словения
	микрогранулы	Сакокс 120.	Болгария
	гранулы	Салинофарм [®] 12 %.	Болгария
	порошок	Клинакокс [®] 0,5 %	Бельгия
	гранулы	Кокцистак 12%	Бразилия
Натрий монензин	гранулы	Требисан 120	Италия
	микрогранулят	Рокцидин [®] 200	Болгария
	гранулированный порошок	Еланкобан [®] 200.	США
	микрогранулят	Монлар 10%	Словения
Аммоний мадурамицин	гранулы	Поулкокс [®] 20%.	Болгария
	гранулированный порошок	Цигро [®] 1%.	Бельгия
Наразин	гранулы	Юмамицин 1 %.	Болгария
	гранулированный порошок	Монтебан [®] 100.	США
ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ			
Толтразурил	суспензия	Байкокс [®] 2,5 %.	Германия
	раствор для перорального применения	Кокциклин.	Корея
	раствор для перорального применения	Толикоккс	Амман-Иордания
	раствор	Кокципродин	Украина
Клопидол	суспензия	Толтарокс [®]	Словения
	микрогранулы	Койден [®] 25 %.	Болгария
Диклазурил	раствор	Диклазурил	Сирия
	раствор	Соликоккс [™] .	Украина
Никарбазин	порошок	Диаккоккс	Украина
	гранулированный порошок	Максибан 160	США
Робендин гидрохлорид	микрогранулированный порошок	Робенц [®] 66 Г.	Италия
Диаверидин	раствор для перорального применения	Ветакоккс С	Франция
Ампролиум гидрохлорид	раствор	Ампрол 12%	Франция
	порошок	Ампролин-300 ВП.	Эстония
	порошок	Ампролиум 22 %.	Украина
	порошок	Бровитакокцид.	Украина
	порошок	Ампролинвет	Украина
	раствор	Ампролинвет для орального применения	Украина

Из представленного перечня видно, что рынок антикокцидийных препаратов в Украине представлен широким ассортиментом препаратов зарубежного производства, меньшим количеством отечественных кокцидиостатических химиотерапевтических препаратов.

На рисунках 1 и 2 показано соотношение количества зарегистрированных в Украине антикокцидийных препаратов для борьбы с эймериозом кур по действующим веществам.

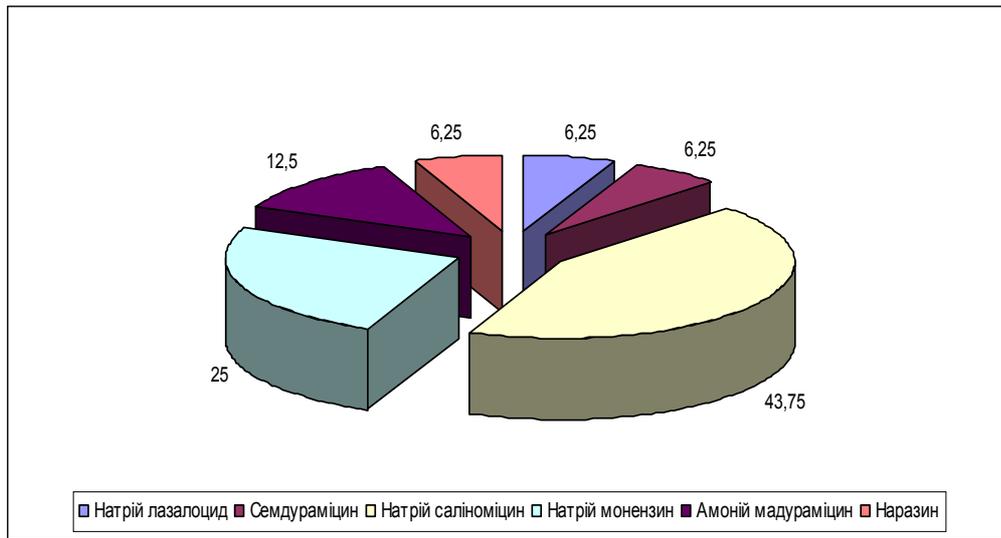


Рис.1 Соотношение количества зарегистрированных в Украине ионофорных кокцидиостатиков по действующим веществам %

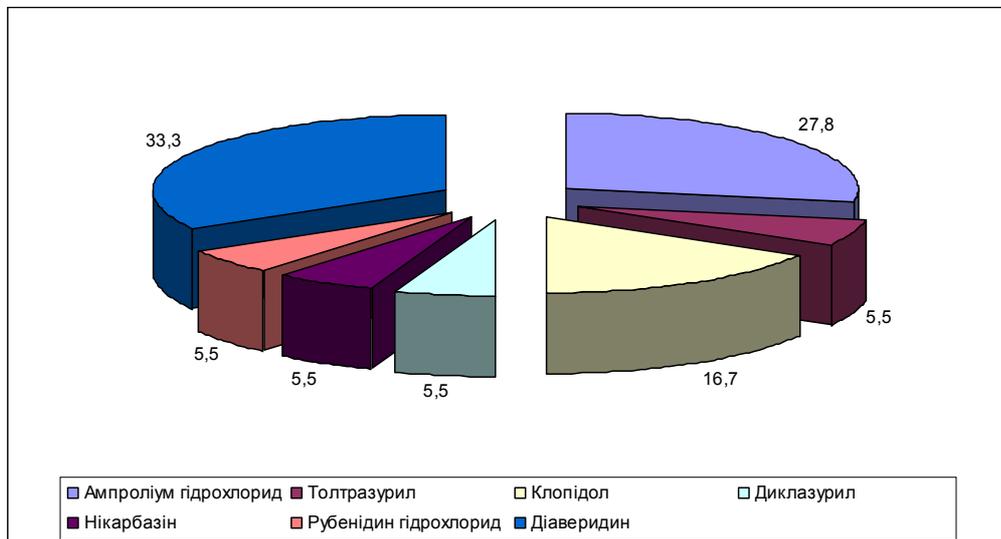


Рис.2 Соотношение количества зарегистрированных в Украине химических кокцидиостатиков по действующим веществам %

Одним из перспективных способов борьбы с кокцидиозом кур является иммунопрофилактика, которая основана на способности птицы вырабатывать иммунитет к эймериозу на фоне антиэймерийных препаратов, которые не препятствуют развитию иммунитета. На сегодня разработано несколько вакцин против кокцидиоза птицы, большинство из которых - это вакцины, которые содержат низкую дозу живого паразита, чтобы стимулировать развитие иммунитета. Это такие «живые» вакцины, как ливакокс, паракокс, имукокс, фортегра и тому подобное. Механизм возникновения иммунитета при вакцинации живой вакциной базируется на контролируемом заселении кишечника птицы вакцинными ооцистами, что позволяет организму птицы выработать эффективный клеточный и гуморальный иммунитет против кокцидиоза, не оставляющим шанса для заселения кишечника патогенными формами кокцидий. Живые вакцины содержат чувствительные к кокцидиостатикам штаммы эймерий, что ускоряет возобновление эффективности традиционных кокцидиостатиков. Однако в случае, когда иммунная система птицы уже ослаблена или подавляется влиянием других инфекционных агентов, паразиты могут вызывать заболевание у уже вакцинированных кур [7]. По данным ряда зарубежных ученых, использование живых вакцин может приводить к снижению производительности птицы и развитию дисбактериоза с появлением некротического энтерита, вызванного *Clostridium perfringens*, спровоцировать субклинический ход кокцидиоза. Недостатком инактивированных вакцин, таких как Коксабик, является их высокая цена, медленная выработка иммунитета, узкий спектр защиты и местное повреждение тканей в месте инъекции.

Усложняет ситуацию с вакцинацией наличие семи разных видов эймерий, что вызывают заболевание у кур. Кокцидийная моновидовая инвазия встречается очень редко. В условиях производства обычно регистрируется паразитирование одновременно нескольких видов эймерий, и живая вакцина не может эффективно защищать от них всех. Поэтому наиболее эффективной могла бы быть вакцинация, когда вакцина содержит штаммы всех видов кокцидий, способных вызывать эймериоз, но создание такой

вакцины очень не легкий и трудоемкий процесс. Ограничивает эффективность живых или инактивированных вакцин и антигенная изменчивость видов эймерий, что присутствуют в них [8]. Все же, не смотря на некоторые недостатки, будущее в борьбе с кокцидиозом птицы, несомненно, за вакцинопрофилактикой.

Таким образом, прогрессирующее развитие антикокцидиостатикорезистентных штаммов эймерий, в сочетании с увеличением запретов на использование антикокцидийных препаратов в промышленном производстве птицы, побуждает к необходимости разработки новых подходов и внедрению альтернативных стратегий в борьбе с кокцидиозом птицы. Через сложный цикл развития кокцидий, сложность развития иммунитета у птицы, для успешной профилактики и борьбы с этим заболеванием становится необходимым полное понимание взаимодействия паразит-хозяин и защитных иммунных механизмов. Поэтому добиться успеха в борьбе с кокцидиозом птицы можно лишь при постоянном мониторинговом анализе эпизоотической ситуации в хозяйствах, аналитически научном подходе к выбору схемы лечения и профилактики эймериоза.

Литература. 1. Мишин В., Разбицкий В., Диковская В. Профилактика кокцидиозов // Эффективне птахівництво. — 2008. — № 3 (39). — С. 50–52. 2. Хьюн С. Иммунная реакция сельскохозяйственной птицы к *Coccidia* // Эффективне птахівництво — 2008. — № 11 (47). — С. 48–50. 3. Коровін Р.Н., Зеленський В.П., Грошева А.Г. Лабораторна діагностика хвороб птиці.— М.:Агропромиздат, 1989. — С. 184 - 186. 4. Орлов С.А. Профилактика эймериоза кур // Эффективне птахівництво. — 2009. — № 7 (55). — С. 42 – 56. 5. Боцуляк Н.Я. Еймеріози (кокцидіози) птиці та їх профілактика // Ветеринарія, Эффективне птахівництво. — 2008. — № 3(39). — С. 47 – 49. 6. Mc Dougald L. R. et al. Efficacy of maduramicin against ionophore-tolerant field isolates of coccidia in broilers // Avian Dis. — 1987. — Vol. 31. — P. 302 - 308; 7. Zhu. G., McDougald L. R.. Characterization of resistance to ionophores in vitro and in vivo in a strain of *E. tenella* // Parasitol. — 1992. — Vol. 78. — P. 1067 – 1073. McDougald L. R. The expanding world of coccidiosis // World Poultry. — 2000. — Coccidiosis Supplement. — P. 2 – 5.

Статья передана в печать 13.09.2012 г.

УДК 619.616.995.1.639.111 (476)

ГЕЛЬМИНТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БИОТОПОВ КАБАНА ПОЛЕССКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО РАДИАЦИОННО-ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ЗАПОВЕДНИКА

Пенькевич В.А.

«Полесский государственный радиационно-экологический заповедник»,
г. Хойники, Гомельская область, Беларусь

Наиболее опасными биотопами, где происходит интенсивная контаминация кабана зародышами паразитов являются: сосновые молодняки, дубравы, березняки, ивняки пойменные, ольшаники, заброшенные деревни и смешанные лиственные леса (ИИ от 204 до 452 з/г экскрементов)

More dangerous vital places where there is an intensive infection of a wild boar with germs of parasites - it: pine young growths, oak groves, birch forests, osier-beds inundated, alder thickets, lonely villages and the mixed deciduous woods (AI from 204 to 452 g/g excrement)

Введение. Общеизвестно, что различные угодья и регионы неравноценны в гельминтологическом отношении. Доказана тесная связь видового состава гельминтов животных и его изменение в зависимости от климато-географических условий местности, ландшафта, экологии животных и некоторых других причин. Различия в зараженности гельминтами животных в разных биотопах служат предметом многочисленных исследований [1-4].

Материал и методы. Зона аварии ЧАЭС представляет большой интерес для оценки паразитологической обстановки, поскольку в силу снятия антропогенного пресса и дезактивации территории там создавалась уникальная экологическая ситуация. Радиоактивное загрязнение местности в сочетании с активизацией сукцессионных процессов повлекли за собой изменения в структуре паразитоценозов. В этой связи гельминтологическая оценка биотопов является основой при бонитировке угодий в процессе охотустройства, для проектирования и проведения любых профилактических мероприятий [2]. Теоретическое и практическое значение изучения этого вопроса в настоящее время сомнений не вызывает. Гельминтологическая оценка биотопов диких копытных по выявлению наиболее опасных для них участков, интенсивно контаминированных зародышами гельминтов, даст возможность определить степень риска инвазирования животных. Знание особенностей взаимодействия гельминтов и окружающей среды позволит решить вопросы организации контроля и профилактики гельминтозов в биоценозах. Наши исследования в 2005-2011гг. в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике (ПГРЭЗ) касались выяснения экстенсивности и интенсивности заражения кабана геогельминтами в разных биотопах их обитания. Исследованиями были охвачены территории 13 лесничеств заповедника.

Были подобраны наиболее посещаемые кабанами биотопы: сосновые молодняки, сосняки средневозрастные и старше, поляны и гари, дубравы, березняки, ольшаники, смешанные лиственные леса, смешанные хвойно-лиственные леса, ивняки пойменные, польдеры, заброшенные деревни (б.н.п.). Отбор проб экскрементов кабанов проводился на трансектах шириной 2 м. Общая протяженность маршрутов составила около 163 км, площадь обследуемой территории 326 га. Экскременты исследовались общепринятыми методами [5, 7-9]. Гельминтологическое состояние биотопов оценивалось

по методикам А.С. Рыковского и др. [1-4, 6-7]. Учитывалась интенсивность инвазивности (ИИ) – среднее количество зародышей в 1 г экскрементов (з/г) кабана в различных биотопах заповедника. К опасным относили биотопы, в которых в 1 г экскрементов кабана обнаруживали 200 и более зародышей гельминтов.

Результаты исследований. Численность кабана на территории ПГРЭЗ – порядка 2130 особей или около 5,5% от численности вида в республике [8].

У кабана ПГРЭЗ обнаружены следующие паразиты: *Fasciola hepatica*, *Alaria alata larvae*, *Sparganum spirometra erinacei*, *Echinococcus granulosus larvae*, *Taenia hydatigena larvae*, *Metastrongylus elongates*, *M. pudendotectus*, *M. salmi*, *Globocephalus urosululatus*, *Ascaris suum*, *Ascarops strongylina*, *Physocephalus sexalatus*, *Oesophagostomum dentatum*, *Trichocephalus suis*, *Macracanthorhynchus hirudinaceus*, *Isospora suis*, *E deblicki*, *E perminuta*, *E polita*.

Для гельминтологической оценки биотопов были исследованы 1127 проб (кучек) экскрементов кабана, отобранных в Хойникской, Брагинской и Наровлянской зонах. В 785 (69,7%) пробах обнаружены зародыши гельминтов. Инвазивность гельминтами кабанов Наровлянской зоны выше на 0,9%.

Общая экстенсивность инвазии кабана составила от 20,1 до 70,3%. В различных биотопах ЭИ следующая: сосновые молодняки – 64-70,3%; сосняки средневозрастные и старше – 20,1-28,5%; поляны, гари, пустыри – 33,0-41,3%; дубравы – 56,0-63,2%; березняки – 54,7-68,1%; ольшаники – 35,3-52,1%; смешанные лиственные леса – 60,5-65,4%; смешанные хвойно-лиственные леса – 18,3-33,4%; ивняки пойменные – 27,3-46,3%; польдеры – 23,0-36,7%; заброшенные деревни (б.н.п.) – 29,0-48,2%. Но для гельминтологической оценки различных биотопов мы ориентировались только на интенсивность инвазии.

В разные биотопы вносятся неодинаковое количество зародышей гельминтов, что зависит от предпочтительности их кабаном. Обычно, основная масса инвазионного начала накапливается в кормовых угодьях и местах отдыха животных. В различных биотопах выживаемость яиц и личинок гельминтов неодинаковая. Например, яйца стронгилят в экскрементах на поверхности пастбищ, под влиянием солнечных лучей (35–40°C), погибают через 5 суток. При 20–24°C, в тени и ночном увлажнении росой, до личинки III стадии развиваются от 49 до 70% яиц. В яйцах на сырых участках пастбищ с густым травостоем при аналогичных условиях температуры и атмосферной влаги до личинки III стадии развиваются 80–85% яиц [9].

Наши исследования показали высокую интенсивность инвазии (количество зародышей гельминтов в 1 г экскрементов – з/г) в следующих биотопах кабана: сосновых молодняках – 452, дубравах – 386, березняках – 344, ивняках пойменных – 320, ольшаниках – 308, заброшенных деревнях – 266 и смешанных лиственных лесах – 204 з/г. Они чаще посещаются, являются для кабана основными кормовыми биотопами и поэтому представляют угрозу заражения гельминтами.

Другие биотопы: сосняки средневозрастные и старше, польдеры, поляны и гари, смешанные хвойно-лиственные леса инвазивны менее интенсивно (ИИ 62-190 з/г), и посещаются кабаном реже.

В 50,3% проб встречались яйца гельминтов семейства *Metastrongylidae*, в 35,0% – яйца гельминтов п/о *Strongylata* (эзофагостом, глобоцефал), п/о *Spirurata* (физацефал, аскоросов), в 27,7% – вида *Macracanthorhynchus hirudinaceus*, в 13,3% – видов *Ascaris suum* и *Trichocephalus suis*, в 20,5% – ооцисты вида *Eimeria suis*. Во всех биотопах отмечены яйца гельминтов семейства *Metastrongylidae*. Но сосновые молодняки и сосняки средневозрастные и старше не представляют опасность – отсутствие промежуточных хозяев метастронгилид – дождевых червей. В отношении вида *Macracanthorhynchus hirudinaceus* и гельминтов п/о *Spirurata* опасны сосновые молодняки, в почвах которых обилие промежуточных хозяев макраканторинхусов, физацефал и аскоросов – личинок жесткокрылых (жуков). Так, при выборочном исследовании личинок майского жука *Melolontha hippocastani*, собранных в сосновых молодняках, и имагинальных форм жуков: майского – *M. hippocastani* и навозника обыкновенного – *Geotrupes corarius*, обнаружены акантеллы скребня-великана (*Macracanthorhynchus hirudinaceus*). Акантеллы локализовались в полости тела у 8,3% личинок майского жука, и у жуков: майского и обыкновенного навозника соответственно, у 2,8 и 4,3%. Яйца гельминтов п/о *Strongylata* (эзофагостом, глобоцефал) обнаружены во всех биотопах, но интенсивность инвазии выше в сосновых молодняках, дубравах, березняках, ольшаниках и ивняках пойменных.

В данных биотопах опасны для кабана все перечисленные гельминты и паразитические простейшие.

Можно отметить, что в наиболее зараженных биотопах было большее количество кучек (к) экскрементов (дефекаций) диких копытных (как свежих, так и старых) – 46-85 к/га, чем в наименее зараженных – 11-23 к/га. Исследования констатировали неоднородность паразитологической ситуации в различных биотопах кабана заповедника. Самая напряженная паразитологическая ситуация, где наибольшая (максимальная) зараженность животных, наблюдалась в сосновых молодняках, дубравах, березняках, ивняках пойменных, ольшаниках, заброшенных деревнях и смешанных лиственных лесах. Эти биотопы могут быть длительное время резервуарами инвазионных личинок гео- и биогельминтов во все периоды года с плюсовыми температурами. Учитывая, что эти биотопы чаще посещаются животными, из-за больших запасов корма, можно предположить, что здесь и происходит более интенсивное инвазирование животных и обмен гельминтами между особями.

Различия в инвазивности диких копытных животных в разных биотопах зависят от многих факторов: типа и возраста леса, состава флоры, микроклимата, почвы, плотности популяции и распределения по этим биотопам промежуточных и дефинитивных хозяев [1, 4].

Таким образом, различные факторы внешней среды играют существенную роль в развитии яиц и личинок гельминтов, а также регулировании их количества в биотопе. В одних биотопах зародыши гельминтов находят все условия для своего сохранения, развития, созревания до инвазионного состояния, в других – таких условий нет.

Заключение. В результате исследований установлено, что более опасными биотопами, где происходит интенсивная контаминация кабана зародышами паразитов (большое количество зародышей в 1 г экскрементов – з/г) могут являться: сосновые молодняки, дубравы, березняки, ивняки пойменные, ольшаники, заброшенные деревни (б.н.п.) и смешанные лиственные леса (ИИ от 204 до 452 з/г экскрементов) Они чаще посещаются, являются для кабана основными кормовыми и защитными биотопами и поэтому представляют угрозу заражения их гельминтами. Другие биотопы: сосняки средневозрастные и старше, польдеры, поляны и гари, смешанные хвойно-лиственные леса – инвазирован менее интенсивно (ИИ 62-190 з/г экскрементов), посещаются кабаном реже и поэтому не так опасны.

Литература. 1. Рыковский, А.С. Опыт гельминтологической оценки и районирования больших территорий (на примере Белорусской ССР) / А.С. Рыковский // Тр. ГЕЛАН СССР. – М., 1980. – Т. 30. – С.82–93. 2. Рыковский, А.С. К вопросу о гельминтологической характеристике типов охотничьих угодий / А.С. Рыковский // Тр. ГЕЛАН СССР. – М., 1961. – Т. 11. – С. 223–228. 3. Рыковский, А.С. Пути и методы гельминтологической оценки охотничьих угодий при их бонитировке. / А.С. Рыковский // Охотничье-промысловые звери: биология и хозяйственное использование. – М., Россельхозиздат, 1965. – В. 1. – С. 25–39. 4. Литвинов, В.Ф. Паразитоценологическая оценка охотничьих угодий: рекомендации по методике использования. / В.Ф. Литвинов. – Мн., БГТУ, 2007. – 152 с. 5. Степанов, А.В. Лабораторная диагностика гельминтозов сельскохозяйственных животных тропических стран: Методические указания. / А.В. Степанов. – М.: МВА, 1983. – 60 с. 6. Котельников, Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды: Справочник. / Г.А. Котельников. – М., Колос, 1983. – 208 с. 7. Шумакович, Е.Е. Гельминтологическая оценка пастбищ. / Е.Е. Шумакович. – М., Колос, 1973. – 240 с. 8. Кучмель, С.В. Видовой состав млекопитающих отрядов насекомоядные, зайцеобразные, хищные, грызуны и парнокопытные Полесского государственного радиационно-экологического заповедника. / Кучмель С.В. // Фаунистические исследования в Полесском государственном радиационно-экологическом заповеднике. / Сборник научных трудов. – Гомель: РНИУП «Институт радиологии», 2008. – С.38–64. 9. Тёмный, Н.В. Взаимодействие между окружающей средой и паразитами. / Н.В. Тёмный // Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах: состояние и методы его диагностики. / Мат. XI Междун. науч.-практич. экологической конф. 20-25 сентября 2010 г., г. Белгород: ИПЦ ПОЛИТЕРРА, 2010. – С. 128–129.

Статья передана в печать 07.09.2012 г.

УДК 619:615.284:616.995.122

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ КЛОРСУЛОН 10% И КАЛЬБАЗЕН ПРИ ФАСЦИОЛЕЗЕ И ПАРАМФИСТОМатОЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Петров В.В., Баркалова Н.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

На всех этапах развития нашей страны увеличение производства молока, мяса и других продуктов питания было и остается одной из главных задач сельского хозяйства. Однако не только количество, но и качество получаемой продукции стоит на одном из первых мест. Несмотря на большое количество антигельминтных препаратов, предлагаемых сегодня различными фирмами-производителями, большинство из них не только являются недостаточно эффективными, но и обладают рядом побочных действий, что оказывает влияние не только на организм животных, но и на человека.

В связи с этим актуальной проблемой остается изыскание новых противопаразитарных препаратов, которые обеспечили бы высокую эффективность, безопасность и были бы более доступными и экономичными. Целью нашей работы было определение противопаразитарной активности и эффективности препаратов Клорсулон 10% и Кальбазен при фасциолезе и парамфистоматозе крупного рогатого скота. В результате проведенных исследований было установлено, что экстенсивность препарата Клорсулон 10% составила 100%, в то время как экстенсивность препарата Кальбазен была ниже – 88%.

At all stages of development of our country the augmentation of production of milk, meat and other food stuffs was and remains to one of the agriculture main tasks. However not only the quantity, but also quality of received production costs on one of the first places. Despite a considerable quantity antigelminthic the drugs offered today by various firms-manufacturers, the majority of them not only are insufficiently effective, but also possess a series of auxiliary actions that affects not only on an organism of animals, but also on the person.

In this connection an actual problem there is a research new antiparasitic drugs which would provide high performance, safety and would be more accessible and economic. Definition antiparasitics activity and efficacy of drugs of Klorsulon 10 % and Kalbazen at fascioles and paramfistomatosis a horned cattle was the purpose of our work. As a result of the made researches it has been positioned that extensefficiency a drug Klorsulon 10 % has compounded 100 % while extensefficiency drug of Kalbazen was more low - 88 %.

Введение. Одной из ведущих отраслей животноводства в Республике Беларусь является скотоводство. Поэтому увеличение численности здорового и высокопродуктивного скота является первостепенной задачей сельского хозяйства. Паразитарные заболевания значительно снижают развитие данной отрасли.

Наиболее распространенными среди паразитарных болезней крупного рогатого скота являются фасциолез, дикроцелиоз, парамфистоматозы и стронгилятозы органов пищеварения. В значительной степени на их распространение влияют условия ведения животноводства в различных географических зонах республики. При этом фасциолы, а в последнее время и парамфистомы в связи с увеличением интенсивности инвазии у крупного рогатого скота являются наиболее патогенными для них. Фасциолы, паразитирующие в желчных ходах печени, а парамфистомы – в стенке тонкого кишечника, рубце или сетке, вызывают тяжелые патологические изменения, часто необратимые [15]. Фасциолез жвачных в Беларуси распространен повсеместно и поражает в отдельных хозяйствах от 4 до 50% поголовья. В настоящее время эта инвазия протекает хронически и часто без выраженного клинического проявления. Однако паразитирование гельминтов в организме животных влечет за собой огромный экономический ущерб, который складывается при фасциозе из снижения упитанности животных, скорости роста и развития молодняка, молочной, мясной и шерстной продуктивности, утраты племенной ценности и половой активности быков и баранов-производителей, увеличения числа выкидышей, браковки пораженных гельминтами печеней, падежа животных, вынужденного убоя, а также повышенного расхода кормов вследствие недостаточной усвояемости их организмом, дополнительных затрат кормов после перенесенной болезни животными для восстановления здоровья. Помимо того, снижается и качество продукции из-за эндотоксикоза [14, 17]. Удои и приросты массы животных при фасциозе снижаются до 13%, браковка печени достигает 23%, себестоимость молока повышается на 12% [5, 9]. К тому же фасциолез имеет и социальное значение – человек, наряду с другими млекопитающими, является дефинитивным хозяином его возбудителя. У людей фасциолез может протекать в тяжелой форме и быть причиной диагностических ошибок [5, 7]. В организме животных редко присутствуют возбудители одного вида, чаще их несколько. По данным С.В. Истомина [8], до 90% животных являются носителями смешанной инвазии. Р.Н. Протасовицкой [11, 16] отмечено, что среди крупного рогатого скота преобладают смешанные инвазии (от 2 до 5 видов гельминтов). Патогенное воздействие гельминтов на организм животных многопланово и складывается из механического, токсического и аллергического влияний. При гельминтозах снижается иммунитет и повышается восприимчивость к инфекционным заболеваниям, обостряются инфекционные и незаразные болезни [13]. Таким образом, особую опасность для животных представляют ассоциативные паразитозы, которые протекают более тяжело и часто заканчиваются летально [1]. Широкому распространению этих заболеваний способствуют благоприятные природно-климатические условия в Республике Беларусь: увлажненность пастбищ, наличие биотопов промежуточных хозяев, недостаточно высокий уровень ведения животноводства, невозможность смены участков выпаса скота, несвоевременное применение эффективных антигельминтных средств и тяжелое финансовое положение хозяйств. До сих пор одним из основных методов борьбы с гельминтозами животных является химиотерапия. Первостепенная роль этого мероприятия неоспорима: предотвращает падеж, приносит большой хозяйственно-экономический эффект. Плановых оздоровительных мероприятий в абсолютном большинстве хозяйств не проводят, все мероприятия сводятся к профилактическим [14]. Наличие достаточно большого ассортимента антигельминтиков на ветеринарном рынке не обеспечивает должной профилактики и лечения паразитозов по причине невозможности их приобретения из-за высокой стоимости, узкого спектра действия и нередко отрицательного воздействия на организм животных [2, 3], поэтому поиск новых антигельминтиков должен быть направлен на усиление их специфического действия на возбудителя и ослабление неблагоприятного влияния на организм хозяина. Высокая востребованность в высокоэффективных, конкурентоспособных и экономически доступных антигельминтных препаратах в Республике Беларусь послужила стимулом к созданию препаратов Клорсулон 10% и Кальбазен.

Материалы и методы. Исследования проводились в течение 2010-2011 гг. на кафедрах фармакологии и токсикологии, паразитологии и инвазионных болезней животных, НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО ВГАВМ, а также в условиях МТФ «Шепелево» Глубокского района Витебской области. Объектом исследования являлись нетели черно-пестрой породы, спонтанно зараженные эндопаразитами – фасциолами и парамфистомами, а также испытуемые препараты. Предметом исследования служили пробы фекалий от обследуемых животных. Диагностику гельминтозов проводили общепринятыми методами [4, 6, 12].

Испытанию подвергали новые антигельминтики – Клорсулон 10%, разработанный сотрудниками кафедры фармакологии и токсикологии УО ВГАВМ и Гомельского завода ветеринарных препаратов, а также Кальбазен, разработанный сотрудниками ООО «Рубикон» и кафедры фармакологии и токсикологии УО ВГАВМ. Препарат Клорсулон 10% (Clorsulonium 10%) представляет собой стерильную прозрачную жидкость. В 1,0 см³ содержится 0,1 г клорсулона (4-амино-6-трихлорэтинил-1,3-бензенидисульфонамида), пропиленгликоля и воды для инъекций до 1,0 см³. Входящий в состав препарата Клорсулон оказывает выраженное противотрематодозное действие на молодых и половозрелых фасциол, а также имеются сведения о его губительном действии на парамфистом. Механизм действия препарата заключается в ингибировании двух смежных ферментов гликолиза во второй части гликолитического пути превращения глюкозы: 1,3-бифосфоглицериновой и 2-фосфоглицериновой кислот. Ингибирование этих двух ферментативных систем ведет к блокаде гликолиза – основного поставщика пирувата в общий путь катаболизма в анаэробных условиях. В результате развивается гипознергетическое состояние, приводящее к гибели паразитов. Исследование остаточных количеств клорсулона в организме животных указывает на короткий период полураспада клорсулона в тканях и молоке. Молоко от животных, которым применяли Клорсулон, можно использовать в пищу людям через 72 часа после применения препарата, а убой животных на мясо разрешается не ранее, чем через восемь дней после последнего применения препарата [10, 18]. Препарат Клорсулон 10% применяют крупному и мелкому рогатому скоту для лечения и профилактики фасциолеза и парамфистоматоза. Препарат вводят подкожно. Препарат Кальбазен относится к группе комплексных антигельминтных средств. Активные компоненты препарата, обладая синергидным действием, вызывают гибель широкого

спектра эндо- и эктопаразитов жвачных животных, включая трематод, нематод, цестод, в том числе устойчивых к бензимидазолам, а также личинок оводов и саркоптоидных клещей. Действующими веществами препарата Кальбазен являются альбендазол сульфоксид и клозантел натрия. Альбендазол сульфоксид избирательно подавляет полимеризацию β -тубулина, нарушает активность микротубулярной системы клеток кишечного канала гельминтов; подавляет утилизацию глюкозы, блокирует передвижение секреторных гранул и др. органелл в мышечных клетках круглых червей, обуславливая их гибель. Особенно эффективен в отношении личиночных форм цестод - *Echinococcus granulosus* и *Taenia solium*, нематод - *Strongyloides stercoralis*. Механизм действия клозантела натрия заключается в разобщении окислительного фосфорилирования в организме паразита, в результате чего снижается синтез АТФ в митохондриях, нарушается энергетический обмен, что приводит к его гибели. Совместное использование двух этих веществ усиливает эффект каждого из них. Максимальная концентрация в крови достигается у крупного рогатого скота и овец через 1 – 5 и 1 сутки соответственно. Период полувыведения у крупного скота и овец составляет соответственно 16 и 12 суток. При введении дойным коровам препарат выделяется с молоком максимум на 4 -7 сутки после введения [18]. Оценка эффективности исследуемых препаратов проводилась по изменению интенсивности инвазии, клиническим признакам, а также сохранности поголовья. Для проведения опыта было сформировано четыре группы животных – две подопытные и две контрольные, по 40 голов в каждой. Животным первой подопытной группы вводили Клорсулон 10% подкожно однократно в дозе 1 мл/50 кг массы животного, животным второй – Кальбазен подкожно однократно в дозе 3 мл/50 кг массы животного. Животные третьей группы служили отрицательным контролем (зараженные), четвертой – положительным (свободные от инвазии). Животных подбирали по принципу условных аналогов с учетом пола, породы, возраста, массы тела. Животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания до и в течение опыта. Исследование проб фекалий проводилось при постановке животных на опыт, а затем на 15, 30 и 45 день после применения препаратов с целью выяснения динамики интенсивности инвазии.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия достоверности Стьюдента.

Результаты исследований. Одной из поставленных нами задач было определение степени инвазированности трематодами крупного рогатого скота (фасциолами и парамфистомами) на МТФ «Шепелево».

Исследования проводились с декабря 2010 по январь 2011 г. путем копроскопического исследования крупного рогатого скота данной фермы. Всего было обследовано 250 голов крупного рогатого скота разных возрастных групп. Результаты исследований показали, что 50 животных из числа обследованных инвазированы фасциолами, и 7 животных инвазировано одновременно фасциолами и парамфистомами, что составляет 20% и 2,8% соответственно. Интенсивность инвазии гельминтами колебалась от 2 до 14 яиц в 1 г фекалий.

Эффективность препаратов учитывали на 15, 30 и 45 день после дегельминтизации. При этом уже на 30-й день в фекалиях животных первой подопытной группы яиц фасциол и парамфистомат обнаружено не было. При исследовании фекалий на 45-й день после дегельминтизации у 8 из 10 животных второй подопытной группы яйца гельминтов отсутствовали, а у двух животных были обнаружены яйца фасциол. С целью полного освобождения их обработали препаратом Клорсулон 10%.

Таблица 5

Динамика интенсивности инвазии при применении препарата Клорсулон 10% (M \pm m)

Обнаружено яиц трематод (среднее по группе)			
до дегельминтизации	15 день	30 день	45 день
9,4 \pm 2,81	4,6 \pm 5,32	0	0

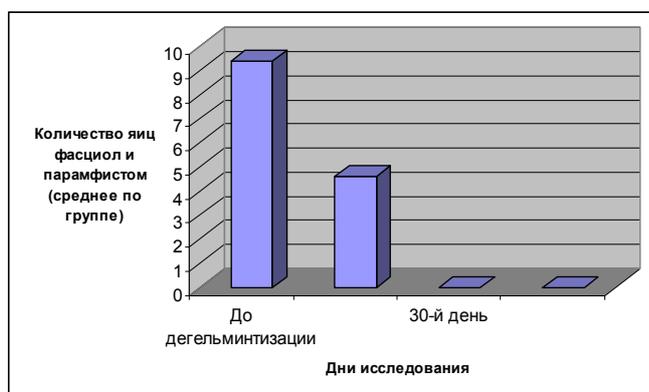


Рис. 3 – Динамика интенсивности инвазии при применении препарата Клорсулон 10%

Таблица 6

Динамика интенсивности инвазии при применении препарата Кальбазен (M \pm m)

Обнаружено яиц трематод (среднее по группе)			
до дегельминтизации	15 день	30 день	45 день
9,5 \pm 3,62	7,2 \pm 5,83	4,4 \pm 3,94	2,8 \pm 2,27

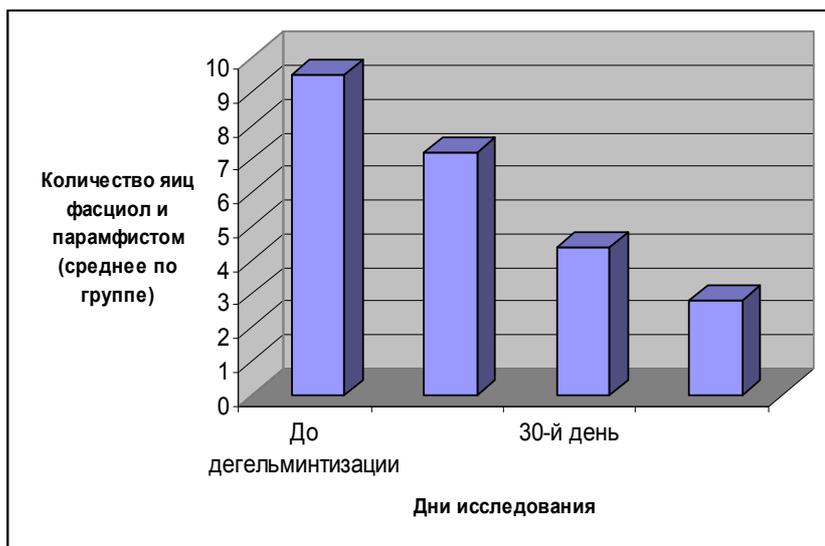


Рис. 4 – Динамика интенсивности инвазии при применении препарата Кальбазен

Таким образом, по данным копроовоскопических исследований, экстенсивность Клорсулона 10% составила 100%, а Кальбазена - 88%.

При обследовании животных третьей группы на 15-й, 30-й и 45-й дни после дегельминтизации отмечали небольшое нарастание зараженности. Животные четвертой группы во все дни обследования оставались свободными от инвазии.

С целью изучения влияния антигельминтиков Клорсулон 10% и Кальбазен на организм животных в течение опыта проводили наблюдение за состоянием клинического статуса, а именно за день до применения и в течение 10 дней после дегельминтизации определяли температуру тела животных, количество дыхательных движений и частоту сердечных толчков в минуту. При этом отклонений от физиологической нормы в течение опыта не отмечено. Клинические признаки заболеваний были затуханы, и достоверными критериями наличия инвазии являлись: выделение яиц фасциол и парамфистом, относительно низкая упитанность. При обследовании печени было установлено ее увеличение. Количество сокращений рубца у таких коров не превышало 1-2 в течение 2 минут по сравнению с 3-4 у здоровых животных. После дегельминтизации у подопытных животных отмечали улучшение аппетита, увеличение сокращений рубца с 1-2 до 3-4 за 2 минуты, причем, как уже было отмечено, скорейшее выздоровление и лучшие показатели отмечались у животных первой подопытной группы. Однако при клиническом исследовании животных по окончании опыта увеличение печени у животных не исчезло.

Заключение. В результате проведенных исследований и полученными данными было установлено, что экстенсивность препарата Клорсулон 10% при фасциолезе составила 100%, в то время как экстенсивность препарата Кальбазен была ниже – 88%. Препараты Клорсулон 10% и Кальбазен рекомендуем применять при фасциоле, а при парамфистоматозе - Клорсулон 10%.

Литература. 1. Адаптационные процессы и паразиты животных: монография / А.И. Ятусевич [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2006. – 404 с. 2. Беспалова, Н. С. Современные противопаразитарные средства в ветеринарии / Н. С. Беспалова. – М.: Колос, 2006. – 192 с. 3. Богданова, О. Ю. Основные паразиты крупного рогатого скота в Ярославской области и меры борьбы с ними / О. Ю. Богданова // Ветеринарная патология. – 2006. – № 3. – С. 104–108. 4. Ветеринарно-санитарные правила по выполнению паразитологических методов лабораторной диагностики гельминтозов, протозоозов и арахноэнтомозов: утв. ГУВ МСХиП РБ 21.07.2007 г. / И. Н. Дубина [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – 52 с. 5. Гигиенические требования к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов: СанПиН 11 63 РБ 98 / Министерство здравоохранения Республики Беларусь, Республиканские санитарно-гигиенические и санитарно-противоэпидемические правила и нормы. – Минск, 1999. – 237 с. 6. Демидов, Н. В. Гельминтозы животных: справочник / Н. В. Демидов. – М.: Агропромиздат, 1987. – 335 с.: ил. 7. Зайков, С. В. Гельминтозы и аллергические заболевания / С. В. Зайков // Здоровье Украины. – 2009. – № 3/2. – С. 42–47. 8. Истомин, С. В. Как выбрать эффективный антгельминтик? / С. В. Истомин, А. В. Горбатов // Ветеринария. – 2003. – № 12. – С. 10–12. 9. Озерецковская, Н. Н. Химиотерапия паразитарных болезней и иммунодепрессии / Н. Н. Озерецковская // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 1987. – № 5. – С. 8–12. 10. Петров, В. В. Обоснование разработки и внедрения современных противотрематодозных средств / В. В. Петров. // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Научно-практический журнал. – Том 43. Выпуск 1.3 (январь-июнь) 2007 г. – С. 174–177. 11. Протасовицкая, Р. Н. Паразиты крупного рогатого скота Белорусского Полесья / Р. Н. Протасовицкая // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск, 2006. – Т. 42, вып. 1, ч. 2. – С. 65–69. 12. Рекомендации по срокам и методам диагностики гельминтозов и кишечных протозоозов сельскохозяйственных и диких животных: утверждены Главным управлением ветеринарии с Государственной ветеринарной инспекцией МСХ и ПРБ 11.02.2011 г. / В. М. Мироненко [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2011. – 34 с. 13. Шишова-Касаточкина, О. А. Биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина (обмен белков, витаминов и стероидов в процессах паразитирования) / О. А. Шишова-Касаточкина, З. К. Леутская. – М.: Наука, 1979. – 280 с. 14. Эффективность антгельминтиков при трематодозах жвачных животных / Ю. Ф. Петров [и др.]. // Ветеринария. – 2006. – № 12. – С. 34–37. 15. Эффективность фаскоцида и альбена супер при фасциолезе, парамфистоматозе и стронгилятозах органов пищеварения у крупного рогатого скота / И. С. Дахно [и др.] // Ветеринария. – 2007. – № 10. – С. 28–30. 16. 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. – 155 с. 17. Ятусевич, А.И. Фасциолез сельскохозяйственных животных / А.И. Ятусевич // Ветеринарная газета. – 1997. - № 24. – С. 1-2. 18. Adams, H. Richard. – *Veterinary pharmacology and therapeutics* – 8 th ed.- Iowa State University Press, 2001.- 2552p.

Статья передана в печать 23.08.2012 г.

УДК 619:576.895.1:636.1

ТРИХОНЕМАТИДОЗНО-СТРОНГИЛОИДОЗНАЯ ИНВАЗИЯ ЖЕРЕБЯТ-СОСУНОВ

Синяков М.П., Алисиевич И.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

У жеребят-сосунов в РУСП э/б «Тулово» Витебского района регистрируется ассоциативное течение трихонематидозов и стронгилоидозов. Трихонематидозно-стронгилоидозная инвазия у жеребят-сосунов вызывает усиленную перистальтику кишечника, диарею, отставание в росте и приступы колик. Применение авермектиновой пасты 1% и инъекционного препарата «Дектомакс» при ассоциативном паразитировании трихонематид и стронгилоидозов у жеребят-сосунов оказывает высокую эффективность.

The foals of the Tulovo farm have been diagnosed with trichonematidae and strongyloidae spp. mixed infections. The infections is characterized by increased peristaltics, diarrhoea, reduced body weight gain and colics. The Avermectin paste 1% and Dectomax injections are very effective for the mixed infestation.

Введение. Коневодство удовлетворяет потребности различных хозяйств в выполнении ряда сельскохозяйственных работ (подвозка кормов, подстилки, вывоз навоза, удобрений и другие подсобные работы), поставляет лошадей для конного спорта, на экспорт; мясо и молоко лошадей широко используются в пищевой промышленности. Конское мясо обладает высокой калорийностью и питательностью, пользуется высоким спросом в потребительской сфере; из молока кобыл производят кумыс, который обладает диетическими и лечебными свойствами и применяется для лечения людей с туберкулёзом, заболеваниями нервной системы, желудочно-кишечного тракта. Кроме того, лошадей используют в биологической промышленности в качестве продуцентов сырья для изготовления лечебных и профилактических сывороток, вакцин против таких заболеваний человека, как ботулизм, столбняк, дифтерия. В акушерско-гинекологической практике в качестве гормонального препарата применяется сыворотка крови жеребых кобыл. В медицине широко используется лошадиный желудочный сок. В последнее время в зонах отдыха перспективным направлением становится конный туризм [6,11].

Все вышеперечисленные положительные стороны, наряду со способностью лошадей эффективно использовать растительные корма, делают коневодство экономически выгодной отраслью животноводства.

С этой целью правительством Республики Беларусь принято постановление по дальнейшему развитию коневодства, целями которого является увеличение поголовья животных, улучшение продуктивных и природных качеств, рост экспорта лошадей, развитие прочной кормовой базы. Для достижения этих целей необходимо проводить ветеринарные мероприятия по профилактике различных болезней, в том числе инвазионных.

Большинство хозяйств республики являются неблагополучными по паразитозам, в частности по гельминтозам, и это обстоятельство негативно сказывается на эффективности ведения животноводства [3,7,8,9,10].

Кишечные гельминтозы являются причиной значительных экономических потерь, связанных с недополучением привеса от переболевшего молодняка, потерей работоспособности животных, гибелью высокоценных племенных лошадей, плохой оплатой корма продукцией, снижением воспроизводительной способности, повышением восприимчивости к другим заболеваниям. Особенно велик ущерб при несовершенности системы профилактических мероприятий [4,5,6,11].

Трихонематидозы (*узелковые колиты*) – широко распространенная болезнь лошадей всех возрастных групп, вызываемая взрослыми трихонематидами и их личинками и характеризующаяся воспалительными процессами в слепой и ободочной кишках и наличием в их подслизистом слое множества мелких узелков, проявляющаяся истощением, секреторной диареей, коликами. Возбудители относятся к сем. *Trichonematidae (Cyathostomatidae)*, подотряду *Strongylata*.

Стронгилоидоз – гельминтоз лошадей, ослов, мулов, вызываемый паразитированием в тонком кишечнике нематод вида *Strongyloides westeri*, подотряда *Rhabditata* и проявляющаяся симптомами расстройства деятельности кишечника, легкими коликами, отставанием в развитии, исхуданием, задержанием линьки.

В настоящее время борьба с кишечными гельминтозами лошадей ведется в основном с помощью химических средств. Однако несмотря на то, что из года в год количество применяемых препаратов возрастает, проблема гельминтозов остается нерешенной. Не в полном объеме решены проблемы профилактики этих болезней на ранних этапах их возникновения. Поэтому важной задачей является поиск новых эффективных средств, полностью удовлетворяющих современным требованиям [1,2,6,12].

Целью наших исследований явилось изучение распространения трихонематидозно-стронгилоидозной инвазии жеребят-сосунов и подбор наиболее эффективных антигельминтиков в хозяйстве РУСП э/б «Тулово» Витебского района Витебской области.

Материалы и методы исследований. Сезонная динамика проявления трихонематидозно-стронгилоидозной инвазии в хозяйстве определялась путем исследования проб фекалий по методу Щербовича в 2011-2012 гг. Отбор проб фекалий (10-15 г) проводили из прямой кишки двумя пальцами – средним и указательным. Каждую пробу фекалий заворачивали в отдельный бумажный пакетик, на котором указывали кличку и возраст животного. Подсчет количества яиц гельминтов проводили в 20 полях зрения микроскопа для в термостате определения интенсивности инвазии. Из яиц, отобранных в период обследования животных, с целью определения родовой принадлежности кишечных стронгилят выращивали в термостате личинок по методу Величкина, создавая температурный режим +25-27°С, при относительной влажности 70-75%. Срок культивирования личинок в термостате - 7 дней.

Было отобрано 13 голов жеребят в возрасте 1-2 месяцев с гельминтозной инвазией. В результате исследований была установлена зараженность жеребят стронгилоидозом на 90%, трихонематидозом на 100%.

5 из 13 отобранных жеребят применяли авермектиновую пасту 1% в дозе 1г/50 кг живой массы; 5 жеребятам – дектомакс в дозе 1 мл/кг живой массы. Контролем служили 3 жеребят, которым препараты не задавали. По результатам исследования фекалий методом Щербовича определяли экстенсивность инвазии лошадей стронгилоидами и трихонематидами. Эффективность препаратов проверяли путем копроскопических исследований на 10, 20, 30, 60-е сутки после их применения. Яйца паразитов подсчитывали в 20 полях зрения микроскопа.

После дегельминтизации ежедневно в станках животных подопытных и контрольных групп собирали фекалии для обнаружения методом отмучивания взрослых паразитов и определения их родовой принадлежности.

В период применения препаратов изучали их влияние на общее клиническое состояние животных.

Результаты исследований. При проведении копроскопических исследований было установлено, что жеребята были инвазированы трихонематидами на 100%, стронгилоидами - на 90%. Сезонная экстенсивность и интенсивность инвазии представлена в таблице 7.

Таблица 7

Сезонная экстенсивность и интенсивность трихонематидозно-стронгилоидозной инвазии жеребят-сосунов в РУСП э/б «Тулово» Витебского района

Месяц, год	Стронгилоидоз		Трихонематидозы	
	ЭИ, %	ИИ	ЭИ, %	ИИ
Апрель 2011г.	100	+++	100	++++
Май 2011г.	100	+++	100	+++
Июнь 2011 г.	80	+++	96	++
Июль 2011 г.	80	++	96	++
Август 2011 г.	80	++	96	++
Сентябрь 2011 г.	75	++	96	++
Октябрь 2011 г.	60	+	96	++
Ноябрь 2011 г.	60	+	96	++
Декабрь 2011 г.	50	+	100	+++
Январь 2011 г.	50	+	100	++++
Февраль 2011 г.	50	+	100	++++
Март 2011 г.	100	+++	100	++++
Апрель 2012 г.	100	+++	100	++++

Примечание: + - низкая интенсивность инвазии (до 30 яиц в 20 п.з.м.);
 ++ - средняя интенсивность инвазии (31-60 яиц в 20 п.з.м.);
 +++ - высокая интенсивность инвазии (60-90 яиц в 20 п.з.м.);
 ++++ - очень высокая интенсивность инвазии (91 и выше яиц в 20 п.з.м.).

Из таблицы 1 видно, что наибольшая экстенсивность инвазирования трихонематидами зарегистрирована в зимне-весенний период года. Уровень заражения в весенние и зимние месяцы составляет 100%. При этом отмечается самая высокая интенсивность инвазии- 91 и выше яиц в 20 полях зрения микроскопа в то время, как в летне-осенний период зараженность трихонематидами была немного меньше и составляла 96%, с интенсивностью инвазии 31-60 яиц в 20 полях зрения микроскопа. Наибольшая экстенсивность инвазирования стронгилоидозом приходится на весенне-летний период и составляет 90-100%, при максимальной интенсивности инвазии 60-90 яиц в 20 полях зрения микроскопа. В остальное время года экстенсивность инвазирования в среднем составляет 60%, а интенсивность инвазии до 30 яиц в 20 полях зрения микроскопа – низкая интенсивность инвазии. Проанализировав в целом изменения зараженности жеребят в различные сезонные периоды года, можно сделать вывод, что интенсивность инвазии при гельминтозах кишечного тракта приходится на весь период года, т.к. трихонематиды и стронгилоидесы являются геогельминтами и развиваются без участия промежуточных хозяев, следовательно, и заражение жеребят ими приходится на все сезоны года. Однако экстенсивность инвазии жеребят в разные сезоны года различная. При стронгилоидозе в основном приходится на

весенне-летний период, что связано с оптимальной температурой (25-30°C) для превращения рабдитовидных личинок в инвазионных личинок филяревидной формы, которыми жеребят заражаются как при проглатывании вместе с кормом или водой, особенно в период выжеребки (март-май) в момент сосания сосков матери, так и путем проникновения этих личинок через неповрежденную кожу. При трихонематидозах жеребят в первые дни жизни в основном заражаются перезимовавшими инвазионными личинками, а трихонематиды достигают половозрелости в организме жеребят через 44-61 день, поэтому наивысшая экстенсивность инвазирования и приходится на весенний период. У жеребят старше 6 месячного возраста наивысшая экстенсивность инвазирования приходится на зимние месяцы, и это связано с тем, что заражение происходит осенью при благоприятных условиях (максимальной влажности и оптимальной температуре) для достижения личинками инвазионной стадии.

При проведении клинического обследования жеребят нами были выявлены пониженная упитанность, отставание в росте, усиленная перистальтика, диарея, анемия видимых слизистых оболочек. У некоторых жеребят отмечались приступы колик.

С целью изучения антигельминтной эффективности при трихонематидозно-стронгилоидозной инвазии жеребят-сосунов были использованы авермектиновая паста 1% и дектомакс.

Для испытания эффективности данных препаратов было подобрано 2 группы жеребят в возрасте 1-2 месяца с экстенсивностью стронгилоидозной инвазии 100%, трихонематидозной – 100%, интенсивность соответственно составила от 60 до 90 яиц стронгилоидов и 90 и выше яиц трихонематид.

Первой группе (5 жеребят) задавали авермектиновую пасту 1% в дозе 1 г/50кг живой массы однократно на корень языка после 12-часовой голодной диеты. Животным второй группы (5 жеребят) - дектомакс в дозе 1 мл/50 кг живой массы внутримышечно однократно. Контролем служили 3 животных, которым препараты не задавали.

Антигельминтную эффективность препаратов проверяли путем копроскопических исследований по методу Щербовича на 10, 20, 30, 60-е сутки после их применения.

Результаты исследований показали, что применение авермектиновой пасты 1% при стронгилоидозно-трихонематидозной инвазии обеспечивает 100%-ную эффективность. Экстенсивность дектомакса при стронгилоидозно-трихонематидозной инвазии составила 90%. При копроскопическом исследовании у жеребят контрольной группы яйца гельминтов были обнаружены на протяжении всего периода проведения опытов. Побочные явления отсутствовали.

Выводы. 1. На конеферме в РУСП э/б «Тулово» Витебского района жеребят-сосуны инвазированы трихонематидами на 100%, стронгилоидозом - на 90%. Интенсивность инвазии при гельминтозах желудочно-кишечного тракта выше в весенний период по сравнению с осенне-зимним.

2. У жеребят-сосунов, инвазированных трихонематидозно-стронгилоидозной инвазией, отмечается усиленная перистальтика, диарея, анемия видимых слизистых оболочек, отставание в росте, истощение и иногда приступы колик.

3. Для дегельминтизации жеребят при трихонематидозно-стронгилоидозной инвазии рекомендуется использовать авермектиновую пасту 1% и дектомакс.

Литература. 1. Ассоциативные болезни лошадей и меры борьбы с ними / А.И. Ятусевич [и др.] // Збірник наукових праць Луганського національного аграрного університету.- Луганськ, 2003.- С. 587-589. 2. Ассоциативные болезни лошадей Республики Беларусь / А.И. Ятусевич [и др.] // Проблемы и перспективы паразитологии.- Харьков-Луганск, 1997.- С. 185. 3. Ассоциативные паразитозы лошадей / А.И. Ятусевич [и др.] // Материалы III научно-практической конференции Международной ассоциации паразитологов. - Витебск: ВГАВМ, 2008.- С. 206-208. 4. Гельминтозы желудочно-кишечного тракта лошадей в Республике Беларусь / А.И. Ятусевич [и др.] // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2003. - № 4. – С. 30-33. 5. Паразитозы желудочно-кишечного тракта лошадей Беларуси / А.И. Ятусевич [и др.] // Паразитарные болезни человека, животных и растений: Труды VI Международной научно-практической конференции. – Витебск, ВГМУ, 2008. – С. 340-343. 6. Рекомендации по борьбе с гельминтозами лошадей / А.И. Ятусевич [и др.], Витебск: ВГАВМ, 2008.-15 с. 7. Сиянков М.П. Видовой состав трихонематид лошадей в Республике Беларусь // Ученые записки Учреждения образования Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины. Т. 40, Ч. 1. – Витебск, 2004. – С. 295-296. 8. Сиянков, М.П. Видовой состав трихонематид лошадей в Республике Беларусь / М.П. Сиянков // Исследование молодых ученых в решении проблем животноводства: материалы IV Международной научно-практической конференции. - Витебск, 2005. - С. 175-176. 9. Сиянков, М.П. Возрастная и сезонная динамика трихонематидозов лошадей в Республике Беларусь / М.П. Сиянков // Молодежь и наука в XXI веке: сборник статей молодых ученых. - Витебск, 2004. - Вып. 1. - С. 172 - 175. 10. Сиянков, М.П. Распространение доминирующих видов трихонематид лошадей в Беларуси / М.П. Сиянков // Исследование молодых ученых в решении проблем животноводства: материалы IV Международной научно-практической конференции. - Витебск, 2005. - С. 174 - 175. 11. Справочник по разведению и болезням лошадей / А.И. Ятусевич [и др.] – М., 2002. – С. 277 - 278. 12. Эффективность препаратов авермектинового комплекса при паразитозах сельскохозяйственных животных / А.И. Ятусевич [и др.] // Ветеринарные и зооинженерные проблемы в животноводстве и научно-методическое обеспечение учебного процесса. - Витебск, 1997.- С. 220-221.

Статья передана в печать 10.09.2012 г.

УДК 619:616.995.77

СИМУЛИДОТОКСИКОЗ ЖИВОТНЫХ В ПОЙМЕ ПОЛЕСЬЯ Республики Беларусь Скуловец М.В., Ятусевич А.И., Каплич В.М.

В Пойме Полесья Республики Беларусь фауна мошек представлена 15 видами. В регионе наблюдается три пика нападения мошек: весенний (в мае), летний (июль-август) и иногда осенний (сентябрь). Массовое нападение мошек вызывает симулидотоксикоз. Для лечения животных при

симулиидотоксикозе можно внутривенно вводить раствор натрия тиосульфата, аскорбиновую кислоту, кальция хлорида и глюкозу.

In the Republic of Belarus Polesie flora midges represented 15 species. In the region, observers have three peak assault midges: spring (may), summer (July-August) and fall (September) sometimes. Massive attack midges calls simuliidotoksikoz. For the treatment of animals with simuliidotoksikozе can be intravenously administered solution of Sodium Thiosulphate, ascorbic acid, calcium chloride and glucose.

Изучение видового состава, распределения, особенностей экологии кровососущих мошек крайне важно для разработки эффективных методов регулирования их численности и защиты от них людей и животных. Мошки являются агрессивными кровососами - их массовое нападение на людей и животных вызывает симулиидотоксикоз, кроме того они являются промежуточными хозяевами многих гельминтов, Мошки также могут быть механическими переносчиками возбудителей сибирской язвы, сапа, туляремии и других инфекционных болезней человека и животных (В.А. Поляков и соавт., 1990; Смирнов А.А., Петров Ю.Ф., Минькова В.А., 2006)

Материалы и методы. Для изучения фауны, экологии и биологии мошек на территории Полесья Республики Беларусь в 2000-2010 гг. были проведены 158 учетов интенсивности нападения мошек на крупный рогатый скот, 46 - на лошадей, 16 - на человека по методу И.А. Рубцова (1956) и путем подсчета насекомых, нападавших на тело животного на площади 40x40 см.

В одном опыте на 10 бычках 6-месячного возраста изучили патогенез и клинику симулиидотоксикоза. Для чего за 10 дней до начала опыта у подопытных животных выбривали волосы в нижних частях тела (подгрудок, живот, промежности). После чего пять бычков на специальной привязи в яркий солнечный день с 9 до 12 часов утра выпасали возле реки, где в большом количестве встречались имаго мошек. При этом в каждые 20 минут (за три часа - 9 раз) учитывали насекомых на теле животного. После чего подопытных бычков переводили в помещение, где содержались остальные пять бычков (контроль).

Гематологические и биохимические исследования проводили за 2 дня до и через 8-12-24-48-72-96-120 часов и 5-10-20 дней после нападения мошек. Концентрацию гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, лейкоцитарную формулу определяли общепринятыми методами, общий белок в сыворотке крови - рефрактометрическим методом, белковые фракции - экспрессметодом, активность ферментов аминотрансфераз - по S. Reitman, S. Frankel (1957) в модификации К.Г. Капетанакиса (1962), альфа-амилазы - по А.А. Покровскому и А.А. Щербаковой (1964), щелочной фосфатазы - по А. Bodansky (1933).

Для разработки методов лечения при симулиидотоксикозах провели опыт, в котором использовали 20 бычков 8-месячного возраста, которых выпасали в течение 3 часов (с 9 до 12 часов) на низинном пастбище, где в среднем на каждое животное нападало по $986,4 \pm 14,8$ экз. имаго мошек. Животным с клиническими признаками симулиидотоксикоза вводили препараты, эффективность которых учитывали по улучшению общего состояния, гематологических и биохимических показателей.

Результаты исследований. В фауне кровососущих мошек на обследованной территории было выявлено 15 видов, относящихся к 10 родам: *Stegopterna richteri* End., *Byssodon maculatus* Mg., *Eusimulium aureum* Fries., *Schoenbaueria nigra* Mg., *Schoenbaueria dendrofila* Patr., *Wilhelmia equina* L., *Boophthora erythrocephala* De Geer., *Odagmia ornata* Mg., *Simulium morsitans* Edw., *Simulium noelleri* Fried., *Simulium paramorsitans* Rubz., *Simulium verecundum* St. et Jamn., *Cnetha latipes* Mg., *Cnetha silvestre* Rubz., *Chelocnetha angustitarse* Lund. Выявленный видовой состав кровососущих мошек представлен в основном таёжными и лесными видами (*Stegopterna richteri*, *Byssodon maculatus*, *Eusimulium aureum*, *Simulium morsitans*, *Simulium noelleri*, *Simulium paramorsitans*, *Simulium verecundum*). Четыре вида больше тяготеют к болотным и лесоболотным зонам (*Schoenbaueria nigra*, *Schoenbaueria dendrofila*, *Boophthora erythrocephala*, *Chelocnetha angustitarse*), виды *Odagmia ornata*, *Cnetha latipes*, *Wilhelmia equina* имеют полизональный ареал и распространены повсеместно.

В целом фауна кровососущих мошек представлена палеарктическими видами. На исследованных территориях, тесно связанных с речными системами, большинство видов мошек приурочено к определенным водотокам, где происходит их преимагинальное развитие. Лесные виды многочисленны в пойме реки Припять, в реках Стыр, Гарынь.

На территориях городов наиболее массовыми кровососами являются *Schoenbaueria nigra* и *Boophthora erythrocephala*, локальными - *Od. ornata*, *Bys. maculatus*, *S.noelleri*, *Sch.dendrofila*, они довольно многочисленны. К редко нападающим видам относятся *W. equina*, *Ch.angustitarse*, *S. morsitans*, *S.paramorsitans*. В обследованном регионе некоторые виды мошек могут вообще не нападать или нападать на человека очень редко, хотя преимагинальные стадии этих видов, в водоёмах могут составлять подавляющее большинство. Так, в пойме малых рек ранней весной нападает в основном *S.noelleri*, а в реке преобладающим по численности является вид *Cn. latipes*.

Доминирующими видами являются *Schoenbaueria nigra* Mg. (ИД - 32,8%), *Boophthora erythrocephala* De Geer (27,8%), субдоминантами - *Schoenbaueria dendrofila* Patr. (12,3%), *Byssodon maculata* Mg. (12,2%), редкими - *Odagmia ornata* Mg. (7,3%), *Simulium noelleri* Fried. (3,1%), *Wilhelmia equine* L. (2,7%), малочисленными - *Chelocnetha angustitarse* Lund. (1%), *Simulium paramorsitans* Rubz. (0,2%), *Simulium morsitans* Edw. (0,6%). В едзичных экземплярах встречаются виды *Stegopterna richteri* End., *Eusimulium aureum* Fries, *Simulium verecundum* St.et Jamn., *Cnetha latipes*/Mg., *Cnetha silvestre* Rubz.

Для изучения влияния погодно-климатических факторов на сезонную динамику численности мошек нами были проанализированы данные метеостанций Брестской и Гомельской областей о ходе среднедекадного значения температур в сезон лёта мошек в периоды с 1930 по 1980 годы (50 лет) и в период с 2005-2010 годы.

Сезонную динамику численности мошек изучали методом учётов количества нападающих кровососов в течение часа на 1 животное на пастбище. Рассчитывали среднедекадную численность.

Сравнение средних значений температур за пятилетку с (2005-201 Огг) с многолетними данными периода 30-х -80-х годов не выявило статистически значимых различий в температурах воздуха в течение сезонов лёта мошек. В сезонной динамике численности мошек наблюдаются два (редко - три) пика активности. Первый (весенний) пик активности нападения симулиид на животных составляет 14-25 дней, наблюдается он в мае-июне, второй (летний) пик нападения является более продолжительным (30-50 дней) и регистрируется в июле-августе. В мае на животных в основном нападают мошки из родов *Odagmia*, *Voorphthora*, *Schoenbaueria*, *Byssodon*, в июле-августе - из родов *Voorphthora*, *Byssodon*, *Simulium*. В некоторые годы при теплой осени в сентябре наблюдается третий пик активности мошек из рода *Voorphthora*, но он является очень коротким (7-10 дней). Порога вредоносной численности (600 экз. имаго, нападающих на животное в час) популяции мошек достигают только в период первого - весеннего подъёма численности. Второй и особенно третий пики активности нападения мошек на животных находятся ниже порога вредоносной численности.

Первые признаки острого симулиидотоксикоза проявляются спустя 8-12 часов после массового нападения мошек (в среднем по $816 \pm 18,4$ экз. на голову) в виде отказа от корма, беспокойства, саливации, повышения температуры тела на $1,5...2^{\circ}\text{C}$. Затем наступает угнетение, пульс и дыхание учащены, на коже подгрудка, живота и промежности видны массовые точечные и полосчатые кровоизлияния. В конце первых суток проявляются отеки подгрудка, живота и век, в крови животных на $12,8 \pm 0,42\%$ уменьшается концентрация гемоглобина, на $10,4 \pm 0,38\%$ - эритроцитов, на $12,8 \pm 0,36\%$ - лейкоцитов, в 2,2 раза падает активность щелочной фосфатазы и в 1,8 раза - альфа-амилазы, но увеличивается активность ферментов аланинаминотрансферазы в 3,8 раза, аспартатамино-трансферазы - в 2,1 раза, концентрация альбуминов - на $16,8 \pm 0,86\%$ по сравнению с показателями контрольных, интактных бычков. В последующие 48-72 часов эти изменения становятся более глубокими. Кроме того, у больных животных регистрируется лейкоцитоз, эозинофилия, нарастает число палочкоядерных при одновременном снижении сегментоядерных нейтрофилов и базофилов.

Начиная с четвертых суток состояние больных животных постепенно улучшалось: восстанавливается аппетит, пульс, дыхание, температура тела; гематологические и биохимические показатели улучшаются и на 20 сутки они достигают уровня контрольных, интактных животных. В нашем опыте из пяти бычков, подвергшихся нападению мошек, выздоровело 4, пало на вторые сутки одно животное.

У павшего животного обнаружили множественные кровоизлияния в подкожной клетчатке, лимфатических узлах, паренхиматозных органах, на слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, в мочевом пузыре; отеки подкожной клетчатки головы, шеи, живота, промежности. Отек легких. Дистрофические изменения со стороны сердечной мышцы, печени, почек. Гиперемия и отек головного мозга. Селезенка не увеличена, но под капсулой видны точечные кровоизлияния.

Для лечения 20 бычков 8-месячного возраста, подвергшихся нападению мошек (в среднем на голову по $986,4 \pm 14,8$ экз. насекомых), мы использовали натрий тиосульфат, аскорбиновую кислоту, глюкозу, хлорид кальция. Всех животных с признаками симулиидотоксикоза перевели в помещение, обеспечили их водой, кормом. Десяти бычкам первой группы вводили внутривенно 5%-ный раствор натрия тиосульфата из расчета 20 мг/кг массы тела по сухому веществу. Десяти животным второй группы в течение 24 часов вводили двукратно, внутривенно 5%-ный раствор аскорбиновой кислоты из расчета 3 мг/кг в сочетании с внутривенным введением 40%-ного раствора глюкозы (по 400 мл на голову) и 10%-ного раствора кальция хлорида (по 150 мл на голову).

При применении вышеуказанных препаратов улучшение общего состояния больных животных наблюдалось спустя 2-4 часа. Полное выздоровление животных наступало после повторного курса лечения, который проводился спустя 24 часа после первого.

Заключение. В сезонной динамике численности мошек в пойме Полесья Республики Беларусь наблюдаются три пика активности, однако порога вредоносной численности мошки достигают только в мае-июне. Массовое нападение мошек в этот период вызывает у животных, выпасающихся на низинных пастбищах, симулиидотоксикоз. При внутривенном введении 5%-ного раствора натрия тиосульфата из расчета 20 мг/кг массы тела по сухому веществу, 5%-ного раствора аскорбиновой кислоты из расчета 3 мг/кг в сочетании с внутривенным введением 40%-ного раствора глюкозы (по 400 мл на голову) и 10%-ного раствора кальция хлорида (по 150 мл на голову), улучшение общего состояния больных животных наблюдалось спустя 2-4 часа. Полное выздоровление животных наступало после повторного курса лечения, который проводился спустя 24 часа после первого.

Литература. 1. А.И. Ятусевич, В.М. Каплич, М.В. Скуловец *Меры борьбы с гнусом в Беларуси* Мн.: Урожай, 1994г. с. 20-45. 2. *Кровососущие мошки Беларуси* В.М. Каплич, М.В. Скуловец Мн.: БГПУ им. М. Танка, 2000.- с. 220-300. 3. Скуловец М.В., Корнейчук Е.Н. *Паразитофауна крупного рогатого скота на территории поймы Припяти* *Материалы Международной научн.-практ.конференции «Аграрное производство и охрана природы»* под ред. Ятусевича А.И. - Витебск, 2011.- с. 144-145. 4. *Климат Иванова: Справочник.* -П.: Метеоиздат, 1981,-160 с. 5. Поляков, В.А. *Ветеринарная энтомология и арахнология: Справочник.* / В.А.Поляков, У.Я. Узакон, Г.А. Веселкин.- М.: Агро-промиздат, 1990.-239 с. 6. Рубцов, И.А. *Методы изучения мошек*/ И.А. Рубцов. - М.-Л.; Изд. АН СССР, 1956.- С.3-56. 7. Смирнов, А.А. *Профилактика симулиидотоксикозов животных* / А.А.Смирнов, Ю.Ф.Петров, В.А.Минькова // *Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях: Материалы Международн. научн.-практ. конф. - Краснодар, 2006.- С. 216-219.*

Статья передана в печать 20.09.2012 г.

УДК 619:616.993.192.1: 636.39

ВИДОВОЙ СОСТАВ ВОЗБУДИТЕЛЯ, СЕЗОННАЯ И ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА ЭЙМЕРИОЗА КОЗ

Ятусевич А. И., Касперович И. С.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Эймериоз вызывается типами простейших – кокцидиями, паразитирующими в эпителиальных клетках кишечника, реже – в других органах многих животных. Кокцидиозы являются одной из главных проблем животноводства в целом, так как они поражают молодняк практически всех видов сельскохозяйственных животных.

Литературные данные свидетельствуют о различии сезонной динамики инвазии в желудочно-кишечном тракте мелких жвачных животных, так как в процессе своей эволюции эймерии приспособились к паразитированию у определенного вида животного.

Eimeriosis it is caused by animals from type of the elementary – coccidia, parasitizing in epithelial cages of intestines and is more rare – in other bodies of many animals. Coccidia are one of the main problems of animal industries as a whole as amaze young growth practically all kinds of agricultural animals.

Literary data testify to distinction of seasonal dynamics inwasi in a gastroenteric path of small ruminants as in the course of the evolution eimerii have adapted to parasitize at a certain kind of an animal.

Введение. Развитию козоводства в Республике Беларусь в немалой степени способствуют благоприятные климатогеографические условия нашей страны. Козы весьма неприхотливы к корму. Они хорошо используют грубые, сочные и концентрированные корма, охотно поедают полынь, колючки, листья кустарников и деревьев. Тем не менее, к настоящему времени крупных козоводческих хозяйств нет, но в то же время увеличилось поголовье коз в индивидуальных хозяйствах. Одной из причин недополучения продукции являются эймерио-гельминтозные инвазии, паразитирующие желудочно-кишечный тракт, которые относятся к малоизученным заболеваниям коз. В связи с этим из-за недостаточной изученности заболеваний коз паразитарной этиологии трудно планировать сроки проведения лечебно-профилактических мероприятий при инвазионных заболеваниях мелких жвачных животных, а тем более эффективно их осуществлять с учетом географических особенностей нашей местности.

Поэтому перед нами была поставлена задача тщательно и всесторонне изучить эймериоз коз, учитывая экстенсивность и интенсивность инвазии среди разных возрастных групп, а также выявить сезонные особенности паразитов в разных географических зонах Беларуси.

Материалы и методы. Работу выполняли в личных подсобных хозяйствах Витебской, Минской, Гродненской областей Республики Беларусь, в клинике кафедры паразитологии и инвазионных болезней животных и виварии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Обследовали копроскопическим методом животных трех возрастных групп: козлят до 6-месячного возраста, молодняк с 6-месячного возраста до года и коз старше 2-х лет.

Материалом для исследования служили пробы фекалий, которые отбирали индивидуально из прямой кишки и исследовали в лаборатории кафедры паразитологии и инвазионных болезней животных УО ВГАВМ по методу Дарлинга.

С целью изучения видового состава ооцист эймерий проводили культивирование в чашках Петри, с добавлением 2% раствора бихромата калия, в термостате при температуре 26-28°C. Виды эймерий определяли по морфологическим признакам ооцист, обращая внимание на следующие критерии: форма, цвет ооцист, строение оболочки, длина, ширина ооцист и спор, наличие или отсутствие шапочки, микропиле, полярной гранулы, остаточного тела в ооцисте и споре, продолжительность споруляции.

При идентификации ооцист эймерий использовали данные В. Л. Якимова (1927), И.В. Абрамова (1951), М.И. Крылова (1959), Г. А. Соколова (1967), М.В. Загороднова (1973), А.И. Ятусевича (2006).

Результаты исследований. При изучении распространения возбудителей эймериоза в различных зонах Республики Беларусь установлено, что самая высокая интенсивность и экстенсивность (100%) инвазии - у козлят до семимесячного возраста. Максимальный уровень эймериозной инвазии наблюдается в конце сентября - октябре и в феврале - марте, но в то же время на интенсивность инвазии коз, как правило, помимо климатических условий, большое влияние оказывает время окота, условия содержания, кормления и другие факторы.

В осенний период было отмечено резкое повышение экстенсивности инвазии у коз - от 90 до 100% при интенсивности от 3 до 300 и более ооцист эймерий в зависимости от возраста животных.

У козлят 6-8 -месячного возраста с октября по ноябрь интенсивность поражения эймериями оказалась более высокой, в среднем на 70% в сравнении с взрослыми козами при интенсивности от 45 до 140 ооцист в поле зрения микроскопа и экстенсивности инвазии 97-100%.

У взрослых коз старше 2-х лет выделение ооцист эймерий в эти месяцы увеличивается в среднем в 3 раза, но не достигает таких высоких пределов, как у козлят 6-8- месячного возраста. У козлят с 4-6-месячного возраста в осенний период значительно возрастает интенсивность инвазии и достигает более 250 ооцист эймерий в одном поле зрения микроскопа при 100% экстенсивности инвазии.

В зимнее время при обследовании животных, находящихся в одинаковых условиях содержания и кормления, отмечается существенная разница как в экстенсивности, так и в интенсивности заражения в

зависимости от возраста. У молодняка от 6 месяцев до года экстенсивность составляет 85% при интенсивности 5-65 ооцист в поле зрения микроскопа.

В третьей группе среди коз старше 2-х лет с января по март степень зараженности составляет от 42 до 100%, так как определенное влияние на распространение эймерий оказывает содержание животных и время окотов. При обследовании коз, находящихся в одинаковых условиях содержания и кормления в одном и том же хозяйстве, отмечается существенная разница как в экстенсивности, так и интенсивности заражения.

У взрослых коз старше года в зимне-весенний период максимальный скачок приходится на время окотов. Экстенсивность поражения коз, содержащихся вместе с козлятами, увеличивается до 100%, при интенсивности инвазии от 150 до 800 ооцист эймерий в 20 полях зрения микроскопа, без проявления клинических признаков, тогда как у коз, находящихся отдельно от козлят, процент заражения в два раза ниже при интенсивности 8-20 ооцист.

При выгоне на пастбище в весенне-летний период интенсивность инвазии начинает значительно снижаться без проявления клинических признаков, независимо от возраста, так как в пастбищный период коза поедает в большей части не подножный корм (траву), а листья деревьев и кустов.

Весной экстенсивность инвазии у козлят до 6 месяцев достигала 87-100%, интенсивность 5-30 ооцист. У козлят старше 7 месяцев экстенсивность составляла 80%, а интенсивность 2-15 ооцист в поле зрения микроскопа. Среди взрослых животных экстенсивность составила 50-70%.

В летние месяцы (июнь – август) уровень эймериозной инвазии снижается у мелкого рогатого скота на 20 - 65%, при интенсивности инвазии от 1 до 7 ооцист эймерий в одном поле зрения микроскопа. Наивысшая экстенсивность инвазии (88%) установлена у козлят 2-5 месяцев при интенсивности 2-18 ооцист в поле зрения микроскопа.

Таблица 8

Зараженность коз эймериями по временам года

Время года	Козлята в возрасте (мес.)					
	1-6		6-12		козematки	
	Экстенсивность (%)	Интенсивность (1п.з.м.)	Экстенсивность (%)	Интенсивность (1п.з.м.)	Экстенсивность (%)	Интенсивность (1п.з.м.)
Осень	100	12-70	97-100	45-140	-	-
Зима	-	-	85	5-65	42-100	8-40
Весна	87-100	5-30	80	2-15	50-70	-
Лето	88	2-18	-	-	20-65	1-7

Наблюдения за козами разных возрастных групп в течение года позволили установить, что наиболее характерные клинические признаки при эймериозе наблюдаются у козлят в возрасте с 3-недель до 4 месяцев. Наиболее характерными клиническими признаками у козлят были нарушения функции желудочно-кишечного тракта, проявляющиеся в виде поноса нередко с примесью крови, бледность видимых слизистых оболочек, снижение упитанности и отставание в росте и развитии.

У козлят 3-4 месячного возраста, в большинстве случаев выделяются два вида эймерий: *E. intricate* при интенсивности инвазии 54,9% и *E. arloingi* (рис.) составляющей 36,3%.

В результате проведенных исследований нами было выявлено 6 видов эймерий. Источником инвазии которых являются переболевшие и больные животные, козematки, так как ооцисты эймерий, выделяемые во внешнюю среду, загрязняют подстилку, кормушки, поилки, окружающие предметы, которые служат фактором передачи.

Рис. 5. Ооцисты эймерий коз: 1. *E. intricate*, 2. *E. arloingi*

E. intricate ооцисты овальной или эллипсоидной формы. Микропиле большое, хорошо заметное, с характерной шапочкой, иногда заостренной вверху. Размер ооцист в среднем 42,9 x 33,5 мкм. Цвет ооцист желто-коричневый. Наружная оболочка толстая. Спорцисты продолговато-овоидные, внутри которых содержатся остаточные тела. Время споруляции при 24-25°C 4-5 дней.

E. arloingi ооцисты продолговато-овальной (яйцевидной) формы. Размер ооцист 27,2x18,8 мкм. Микропиле имеется, микропилярная шапочка слабо заметная, бесцветная. Спорцисты продолговатые или овоидные. Время спорогонии-72-84 часа.

Среди коз старше года наблюдается смешанная инвазия, и основными видами среди встречающихся являются:

E. arloingi (89%);

E. intricate (74%);

E. pinaekohljakimovae (34%) - форма ооцист варьирует от круглой до эллипсоидной. Размеры ооцист 16,5-27,5 x 13,3-23,1 (22,2 x 18,1) мкм. Стенка ооцист состоит из двух слоев: наружного

гладкого, бесцветного или светло-желтого. Спороцисты продолговато-овоидной формы 9-14 x 4-10 мкм.

Время споруляции при 24-25 °С 2-3 дня.

E. faurei(12,4%) ооцисты продолговато-овальной формы. Окружены двухконтурной оболочкой. Величина ооцисты 18,0-38,4x14,4-23,4 микрона. Цвет ооцист коричнево-желтый. Спорогония заканчивается в 3-4 дня.

E. parva(3,6%) форма ооцист варьирует от круглой до эллипсоидной. Размеры ооцист 9,9-18,7 x 7,7-13,3 (14,3 x 12,3) Стенка ооцист гладкая, бледно-желтая или желтовато-зеленая, состоит из двух слоев. (Крылов, 1959).

Время споруляции при 24-25 °С 1-2 дня.

E. granulose(1,9) ооцисты грушевидные, эллипсоидные, с микропиле и полярной почкой (высотой 1-3 мкм и шириной 5-12 мкм) на широком полюсе цисты. Размеры ооцист 23-32 x 18,7-28,1 (28,5 x 21,5) мкм (Крылов, 1959). Стенка ооцист состоит из двух слоев. Обычно имеются две и более светопреломляющих гранул. Спороцисты 13-16 x 8-9 (15 x 8) мкм с небольшими штифовскими тельцами, содержат остаточные тела.

Заключение. Наблюдения за козами разных возрастных групп в течение года позволили установить, что ооцисты эймерий были обнаружены среди всех возрастных групп коз, во все сезоны года. Клинически эймериоз проявляется у козлят с 3-х недель до 4 месяцев. Источником инвазии служат больные и переболевшие животные.

Наивысшая интенсивность выделения ооцист отмечается у козлят в возрасте 3-7 месяцев. Повышение экстенсивности эймериозной инвазии до максимального уровня у молодняка отмечается в осенний период до 100%, а у козematок приходится на зимне-весенний период, время окотов.

Из вышеизложенного следует, что для своевременного и эффективного проведения профилактических мероприятий чрезвычайно важно учитывать возраст животного, сезон года и природные факторы в Республике Беларусь.

Литература: 1. Абрамов И. В. *Инфекционные и инвазионные болезни овец и коз* / Ред. Ф. А. Терентьев, А. А. Марков. – Москва: Сельхозгиз, 1951.- 485-494. 2. Исакаев М. М. *Нематодирозно-эймериозная инвазия у овец.* –В. кн.: *Болезни жвачных животных.* –Алма-Ата, 1987 3. Соколов Г. А. *Эймериоз овец* / Г. А. Соколов. – Витебск: ВГАВМ, 2010. – 100 с. 4. Терентьева, З.Х. *Сезонная и возрастная динамика гельминтозов коз оренбургской пуховой породы* /З.Х. Терентьева// *Инвазионные болезни сельскохозяйственных животных: Межвузовский сборник тезисов докладов сельхозинститута.* - Иваново, 1991. – С. 67-69. 5. Терентьева, З.Х. *Сезонно - возрастная динамика гельминтозных и протозойных заболеваний коз в разных зонах Оренбургской области* /З.Х. Терентьева, П.И Христиановский// *Актуальные вопросы ветеринарии: Межвузовский сборник научных трудов Оренбургского государственного университета.* - Оренбург, 1996. - С. 45- 47. 6. Ятусевич А. И. *Дифференциальная диагностика болезней животных: практическое пособие.* – Минск: Техноперспектива, 2010.-232. 7. Ятусевич А.И. *Протозойные болезни сельскохозяйственных животных: монография* / А.И. Ятусевич. – Витебск, 2006. – 223 с.

Статья передана в печать 07.09.2012 г.

УДК 619:616.995.132:636.2

ОСОБЕННОСТИ ЭПИЗООТОЛОГИИ КАПИЛЛЯРИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Ятусевич А.И., Ковалевская Е.О.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Результаты исследований показали, что экстенсивность капилляриозной инвазии в среднем по Республике Беларусь составила 11,9±1,92 %. Развитие Capillaria bovis происходит прямым путем. В естественных условиях срок развития яиц Capillaria bovis колеблется от двух до трех месяцев. Испытанные препараты (артемизитан, альверм, болюсы с альбендазолом, авермектиновые болюсы) показали высокую экстенс - и интенсэфективность (100%) при капилляриозе крупного рогатого скота.

The Results of the studies have shown that extensiveness kapillariosis invasions at the average on Republic Belarus has formed 11,9±1,92 %.The Development Capillaria bovis occurs direct pu-that. In natural condition period developments Capillaria bovis it varies from two before three months. The Practised preparations (artemizitanum, alvermum, albendazol and avermectinum in prolonged form) have shown high extensiveness (100%) under kapillariosis large horned live-stock.

Введение. Несмотря на многочисленные исследования, паразитологическая ситуация в животноводстве остается напряженной. Сложность решения проблемы борьбы с паразитами животных состоит как в видовом разнообразии возбудителей болезней, так и в 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. Среди них – капилляриоз крупного рогатого скота.

Материалы и методы. 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.

Изучались сроки развития яиц *Capillaria bovis* до инвазионной стадии, а также переживаемость яиц данных гельминтов при воздействии различных факторов внешней среды. Срок наблюдения за пробами – 6 месяцев. Жизнеспособность яиц капиллярий определяли путем их культивирования в термостате до развития инвазионной личинки. Также по общепринятым методикам были проведены исследования устойчивости яиц *Capillaria bovis* к растворам НВ-1 и НВ-2, фармайоду.

Терапевтическую эффективность антигельминтиков изучали на спонтанно инвазированных телятах. Изучение влияния препаратов, используемых при капилляриозе (болюсы с альбендазолом, авермектиновые болюсы, артемизитан, альверм), на организм животных проводили путем изучения общих клинических и гематологических показателей. Эффективность дегельминтизаций при использовании болюсов авермектиновых и болюсов с альбендазолом определяли исследованием проб фекалий от опытных телят на 1, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120 дни после применения препаратов, а также через 4, 5, 6 месяцев, чтобы установить срок профилактического действия препаратов; при использовании артемизитана и альверма – на 5, 10, 15 дни после дачи препаратов.

Все цифровые данные, полученные при проведении экспериментальных исследований, обработаны статистически с использованием компьютерных программ BIOM 2716.

Результаты. Полученные нами данные свидетельствуют о широком распространении капилляриоза крупного рогатого скота. При этом экстенсивность инвазии в среднем по Республике Беларусь составила $11,9 \pm 1,92$ %, интенсивность инвазии - $108,56 \pm 20,71$ яиц в 1г фекалий в среднем.

Таблица 9

Распространение капилляриоза в различных типах животноводческих хозяйств Беларуси, %

Область	Всего, min/max	Молочное направление	Мясомолочное направление	Мясное направление
Витебская	3,8 – 40,0	$24,97 \pm 2,38$	$13,35 \pm 5,35$	$4,4 \pm 0,60$
Могилевская	2,0 – 40,0	$23,77 \pm 5,45$	$5,51 \pm 1,52$	$2,1 \pm 0,11$
Брестская	4,0 – 16,6	$12,86 \pm 1,30$	$4,51 \pm 0,50$	-
Гомельская	3,0 – 20,0	$17,75 \pm 6,00$	$4,16 \pm 0,84$	-
Гродненская	3,3 – 25,0	$22,55 \pm 9,46$	$3,76 \pm 0,44$	$0,33 \pm 0,10$
Минская	2,9 – 11,7	$8,66 \pm 1,95$	-	-
В среднем по республике	$11,9 \pm 1,92$	$18,41 \pm 2,68$	$6,25 \pm 1,8$	$2,26 \pm 1,19$

Наиболее часто капилляриоз регистрировался в Витебской (19,5 %) и Могилевской (13,9 %), реже – в Брестской (11,1 %), Гомельской (11,8 %) и Гродненской областях (8,6 %), совсем редко – в Минской области (5,4 %).

Капилляриоз крупного рогатого скота чаще обнаруживался в хозяйствах молочного направления ($18,41 \pm 2,68$ %), реже – в хозяйствах мясомолочного ($6,25 \pm 1,8$ %) и мясного направлений ($2,26 \pm 1,19$ %).

Таблица 10

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

Капилляриоз впервые регистрировался 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 %.

Наиболее высокая экстенсивность инвазии наблюдалась 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 возрастала и достигала 11,7 %, при этом минимальная экстенсивность составляла 5 %, максимальная – 21,2 %. Установлено, что основным источником заражения животных капилляриозом в осенне-зимний период служит подстилка, а в весенний и летний периоды – инвазированные пастбища и выгульные дворики.

Результаты проведенного заражения дают основание утверждать, что развитие *S.bovis* происходит прямым путем – без участия промежуточного хозяина. Первое выделение яиц *S. bovis* с фекалиями телят в осенне-зимний период наступает на 73 – 81 день с момента заражения, а в весенне-летний период – на 66 – 71 дни. Инвазионные личинки в яйцах *S. bovis* развиваются в лабораторных условиях при температуре 26°C – 28°C в 1 %-ном растворе соляной кислоты в течение 54 – 62 дней. В естественных условиях культивирование яиц *Sarillaia bovis* проводили в летний период. Фекалии помещали на поверхность почвы и на глубину 10 – 20 см. Сроки развития колебались от 60 до 90 дней. Быстрее личинка достигает инвазионной стадии в почве (глубина 10 – 20 см) – через 64 – 72 дня. Установлено, что яйца в почве сохраняли свою жизнеспособность в течение 1,6 лет (период наблюдения).

Солнечные лучи и высушивание губительно действуют на развитие яиц капиллярий. Яйца, выделенные во внешнюю среду в зимний период, не развиваются, но при попадании их в оптимальные условия до 53 % их может достигать инвазионной стадии. Более 90 % яиц при температуре окружающей среды от +2°C до +14°C в воде остаются жизнеспособными более 30 дней. При температуре окружающей среды от +18°C до +28°C в яйцах развиваются инвазионные личинки.

В результате проведенных опытов установлено, что фармайод является эффективным дезинвазирующим средством при капилляриозе в 2 % концентрации при температуре 60 – 70 °C и экспозиции не менее 12 часов, в 3 % концентрации при комнатной температуре (15 – 18 °C) и экспозиции 24 часа либо при температуре 70 °C и экспозиции 3 часа. Растворы НВ-1 и НВ-2 эффективны в качестве дезинвазирующих средств в 2,5 %-ной концентрации при комнатной температуре и экспозиции 12 часов. 3,5 % растворы НВ-1 и НВ-2 эффективно обезвреживают яйца капиллярий при комнатной температуре и экспозиции 6 часов.

Для борьбы с капилляриозом были испытаны болюсы с альбендазолом и авермектином, которые показали 100 % экстенс - и интенсэфективность. Повторное заражение капилляриозом произошло предположительно на 110 – 120 день после дегельминтизации, так как у выпасавшихся животных первое выделение яиц капиллярий отмечено на 175-й день наблюдения, что свидетельствует о высокой профилактической эффективности препаратов.

Установлено, что применение данных пролонгированных форм, способствует нормализации гематологических и биохимических показателей крови телят. У телят 1-й (пролонгированная форма альбендазола) и 2-й (пролонгированная форма авермектина) опытных групп уже через 5 дней после дачи препарата содержание эритроцитов увеличилось до $5,07 \pm 0,15 \times 10^{12}/л$ ($P < 0,01$) в 1-й группе, и до $5,12 \pm 0,14 \times 10^{12}/л$ ($P < 0,01$) во 2-й, и находилось в пределах нижней границы нормы, достоверно увеличиваясь в течение всего периода исследования. На 15 день исследования содержание гемоглобина в крови телят опытных групп было на 26,3 г/л и 25,5 г/л выше, чем в контроле. Начальный лейкоцитоз постепенно исчезал. При этом в лейкограмме у телят опытных групп одновременно снижалось количество эозинофилов с $8,4 \pm 0,51$ % и $7,4 \pm 0,51$ % в первый день до $3,4 \pm 0,24$ % ($P < 0,001$) и $3,2 \pm 0,37$ % ($P < 0,001$) на 120-й день исследования. Содержание общего белка в сыворотке крови увеличилось за период наблюдения в 1-й опытной группе в среднем на 18,75 г/л, во 2-й опытной группе – на 18,12 г/л. Соотношение белковых фракций в крови животных 1-й и 2-й опытных групп в 1-й день взятия крови было характерным для наличия инвазии, а именно наблюдалось повышение процентного содержания альбуминов и гамма-глобулинов. По мере освобождения телят от гельминтов показатели содержания различных фракций крови возвращались в пределы нормы. Начальное повышенное содержание АлАТ в сыворотке крови телят начинает медленно снижаться у животных опытных групп на 2,58 и 1,97 U/l (в 1-й и 2-й группах соответственно) уже на 15-е сутки. Активность АсАТ у телят опытных групп понижается быстрее, чем активность АлАТ. Так, к 15-му дню она уже на 3,40 в 1-й, и на 4,18 U/l во 2-й группе меньше, чем в начале опыта.

Артемизитан в дозе 0,040 г/кг и альверм в дозе 0,080 г/кг живой массы показали 100% экстенс - и интенсэфективность при смешанной инвазии, вызванной капилляриями и трихоцефалами. По своим противопаразитарным свойствам артемизитан, как препарат растительного происхождения, не уступает известному антигельминтику альверму. Проведенные исследования крови при использовании данных препаратов не показали наличия каких-либо патологических изменений в системе крови. Нами было установлено, что при использовании вышеперечисленных препаратов показатели крови улучшаются, начиная с 5 дня после обработки, и полностью восстанавливаются уже к 20 – 30 дню после проведения лечения. Изучение активности в крови ферментов АсАТ и АлАТ позволило предположить отсутствие или минимальную токсичность применяемых препаратов.

Заключение:

1. Капилляриоз крупного рогатого скота в Беларуси распространен довольно широко. Экстенсивность инвазии составляет до 40 % (в среднем по республике $11,9 \pm 1,92$ %). Наибольшее распространение капилляриоза установлено в хозяйствах молочного направления ($18,41 \pm 2,68$ %),

минимальное – в хозяйствах мясного ($2,26 \pm 1,19$ %) и мясомолочного направлений ($6,25 \pm 1,8$ %). Самая высокая экстенсивность инвазии отмечается у телят в возрастной группе 6 – 8 месяцев – 28,9 %. Болезнь регистрируется во все сезоны года, однако наибольшая зараженность отмечается в осенний период (ЭИ – 27,5 %).

2. Развитие *Capillaria bovis* происходит прямым путем – без участия промежуточного хозяина; до инвазионной стадии личинки в яйцах *C. bovis* развиваются в лабораторных условиях при 26°C – 28°C в течение 54 – 62 дней. В естественных условиях срок развития *Capillaria bovis* колеблется от двух до трех месяцев. Первое выделение яиц *C. bovis* с фекалиями телят в осенне-зимний период наступает на 73 – 81 день с момента заражения, а в весенне-летний период – на 66 – 71 день.

3. Солнечные лучи и высушивание губительно действуют на развитие яиц капиллярий. Яйца, выделенные во внешнюю среду в зимний период, не развиваются, но при попадании их в оптимальные условия (температура окружающей среды от $+18^{\circ}\text{C}$ до $+28^{\circ}\text{C}$) до 53% их может достигать инвазионной стадии.

4. Испытанные лекарственные препараты (артемизитан, альверм, болюсы с альбендазолом, авермектиновые болюсы) показали высокую экстенсивность и интенсивность (100 %) при капилляриозе крупного рогатого скота. Болюсы с альбендазолом и авермектином в течение 110 дней профилактируют спонтанное заражение крупного рогатого скота капилляриями в летний период. Применение данных препаратов способствует нормализации клинического статуса, морфологических и биохимических показателей крови телят.

5. Фармайод является эффективным дезинвазирующим средством при капилляриозе в 3% концентрации при температуре 70°C и экспозиции 3 часа. Растворы НВ-1 и НВ-2 (в концентрациях по формальдегиду 2,5 %, 3,5%) разрушают яйца *Capillaria bovis* при комнатной температуре и экспозиции 6 – 12 часов. Меньшие концентрации данных препаратов (1 – 2 %) не вызывают гибели яиц капиллярий, однако задерживают их развитие до инвазионной стадии на 7 – 14 дней.

Литература 1. Даугалиева, Э.Х. Методические рекомендации по изучению влияния антгельминтиков на иммунный статус животных при гельминтозах / Э.Х. Даугалиева [и др.] – Минск, 1980. – с.18. 2. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. – 2-е изд. / В.С. Камышников – Мн.: Беларусь, 2002. – С. 24-68, 171-268. 3. Карпуть, И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных / И.М. Карпуть – Минск: Ураджай, 1993. – С. 11-30, 108-111. 4. Кондрахин, И.П. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии / И.П. Кондрахин [и др.] – М.: Агропромиздат, 1985. – 287 с. 5. Колб, В.Г. Клиническая биохимия / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Мн.: Беларусь, 1976. – 312 с. 7. 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 05.09.2012 г.

УДК 619:616.995.121

ПАЗАРИТОЗЫ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЖВАЧНЫХ В БЕЛАРУСИ

**Ятусевич А.И., Мироненко В.М., Кирищенко В.Г., Вербицкая Л.А.,
Братушкина Е.Л., Воробьева И.Ю.**

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Смешанные инвазии у коров включали эймерий, нематод, трематод и цестод. Общая зараженность составила $82,0 \pm 2,16$ %.

Смешанные инвазии у овец включали эймерий, нематод, трематод и цестод. Общая зараженность составила $86,96 \pm 7,04$ %.

The cows mixed infestation was established with eimeria, nematodes trematodes and cestodes. The total infestation of GI tract is $82,0 \pm 2,16$ %.

The sheep mixed infestation was established with eimeria, nematodes trematodes and cestodes. The total infestation of GI tract is $86,96 \pm 7,04$ %.

Введение. Несмотря на многочисленные исследования, выполненные на территории нашего государства, паразитологическая ситуация в хозяйствах остается напряженной [1]. В Беларуси серьезную проблему для животноводов и ветеринарных специалистов представляют протозойные и гельминтозные болезни жвачных. Наиболее пагубное воздействие оказывают эти заболевания при ассоциативном течении.

Многочисленность видов возбудителей паразитарных болезней, разнообразие путей и факторов их передачи указывают на необходимость постоянного мониторинга эпизоотической ситуации с целью изучения структуры паразитарного сообщества и усовершенствования мер борьбы и профилактики паразитарных болезней, своевременного проведения лечебных и профилактических мероприятий [2].

Материалы и методы исследований. Исследования проведены в 2011-2012 годах. С целью изучения ассоциативных паразитозов крупного рогатого скота проводили отбор проб с последующим проведением копроскопических исследований универсальным количественным седиментационно-

флотационным методом с центрифугированием для диагностики низкоинтенсивных инвазий (Мироненко В.М. 2008, 2009) и общепринятыми методами [3, 4, 5].

Для изучения распространения паразитозов обследовали коров в хозяйствах Брестской области: Жабинковский район СПК «Шпитали» (молочное скотоводство); Ивановский район СПК «Агро-Мотоль» (молочное и мясное скотоводство), СПК «Достоево» (мясное скотоводство); Каменецкий район ОАО «Каменецкая пуца» (молочное скотоводство); Пружанский район ОАО «Отечество» (молочное скотоводство).

В Витебской области: Лепельский район СПФ «Заозерье ОАО «Лепельский МКК» (молочное скотоводство), КУСХП «Пестуница» Витебский район (молочное скотоводство), КУПСХП «Освейское» Верхнедвинский район (молочное и мясное скотоводство), ОАО «Жвиранка» Шарковщинский район (молочное скотоводство), ОАО «За родину» Глубокский район (молочное скотоводство); ОАО «Узменский край» Миорского района (молочное скотоводство); ОАО «Приозерный мир» Шумилинский район (молочное скотоводство); Городокский район филиал «Вировлянский» ИП «Детскосельский Городок» (молочное скотоводство); Браславский район ОАО «Слабодка-Агро» (молочное скотоводство).

В Гомельской области: Петриковский район ОАО «Агро-Слобода» (молочное скотоводство), СХК «Лясковичи» ГПУ НП «Припятский» (мясное скотоводство), Житковичский район ОАО «Туровщина» (мясное скотоводство); Октябрьский район КСУП «Совхоз «Октябрьский»» (молочное скотоводство), Гомельский район ОАО «Совхоз комбинат СОЖ» (мясное скотоводство), Мозырьский район СПК «Осовец» (мясное скотоводство).

В Гродненской области: Волковысский район ГСУП «Подороск» (молочное скотоводство), Лидский район СПК «Белица-Агро» (молочное скотоводство), Сморгонский район СПК «Раковцы» (мясное скотоводство), Филиал "Жодишки" ПЧУП "Сморгонский комбинат хлебопродуктов" (молочное скотоводство), Вороновский район СПК «Трокельский»; Дятловский район СПК «Русь-Агро» (молочное скотоводство).

В Минской области Столбцовский район СПК «Шашки», СПК «Родина Я. Коласа» (молочное скотоводство), Борисовский район ОАО «Кишино-Слободское», ОАО «Мирополье» (молочное скотоводство), Несвижский район СПК «Городея», РУП «Ганусово», РУП э/б «Свекловичная», Минский район ОСП «Совхоз «Минский»» ОАО ДОРΟΣ (молочное скотоводство).

В Могилевской области: Славгородский район СПК «Ректянский» (мясное скотоводство); Кировский район СПК «Бересневский» (молочное скотоводство), Бобруйский район ОАО «Агрокомбинат «Бобруйский»» (молочное скотоводство); Шкловский район ОАО «Новгородищенское» (молочное скотоводство); Быховский район СПК «Обидовичи», СПК «Мокрянский» (молочное скотоводство).

Всего происследовано 2108 проб фецев коров.

Для изучения распространения паразитозов овец проводили исследования в КУПСХП «Освейское» Верхнедвинского района, КФХ «Сеньково» Витебского района Витебской области, КФХ «Агро-дружба» Хотимского района Могилевской области, ФХ «Дички» Минского района Минской области, СПК «Конюхи» Ляховичского района Брестской области. Всего происследовано 1009 проб фецев овец.

Результаты исследований. В Брестской области общая зараженность коров паразитами пищеварительной системы составила в среднем 82,98±4,19%. Из них моноинвазии регистрировали в 55,13±9,76% случаев, двухкомпонентные ассоциации – 41,72±9,17%, трехкомпонентные ассоциации – 3,15±1,63%, четырехкомпонентные ассоциации не выявили.

Экстенсивность инвазии нематодами подотряда Strongylata в среднем составила 54,42%. Интенсивность инвазии в среднем – 1,40±0,56 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии простейшими рода Eimeria в среднем составила 62,82%. Интенсивность инвазии в среднем – 3,65±1,27 ооцист/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии цестодами рода Moniezia в среднем составила 2,72%. Интенсивность инвазии варьирует в среднем – 0,23±0,16 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами рода Fasciola в среднем составила 0,98%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,03±0,0 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами подотряда Paramphistomata в среднем составила 0,49%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,10±0,0 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода Capillaria в среднем составила 1,45%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,04±0,02 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода Trichocephalus в среднем составила 0,33%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,04±0,02 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода Strongyloides в среднем составила 2,50%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,22±0,12 яиц/1,0 фекалий.

В Витебской области общая зараженность коров паразитами пищеварительной системы в среднем составила 75,92±4,67%. Моноинвазии составили 53,80±5,34%, двухкомпонентные ассоциации – 40,74±4,51%, трехкомпонентные ассоциации – 4,97±1,77%, четырехкомпонентные ассоциации – 0,49±0,36%.

Экстенсивность инвазии нематодами подотряда Strongylata в среднем составила 61,25%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,81±0,19 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии простейшими рода Eimeria в среднем составила 29,13%. Интенсивность инвазии в среднем – 1,29±0,53 ооцист/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии цестодами рода Moniezia в среднем составила 5,47%. Интенсивность инвазии в среднем – 1,07±0,29 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами рода Fasciola в среднем составила 19,55%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,19±0,08 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами подотряда *Paramphistomata* в среднем составила 1,28%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,02 \pm 0,0$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода *Strongyloides* в среднем составила 0,35%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,05 \pm 0,0$ яиц/1,0 фекалий.

В Гомельской области общая зараженность паразитами пищеварительной системы составила в среднем $91,35 \pm 1,94\%$. Моноинвазии $45,38 \pm 4,12\%$, двухкомпонентные ассоциации – $33,63 \pm 1,99\%$, трехкомпонентные ассоциации – $18,34 \pm 2,78\%$, четырехкомпонентные ассоциации – $2,64 \pm 1,01\%$.

Экстенсивность инвазии нематодами подотряда *Strongylata* в среднем составила 63,46%. Интенсивность инвазии в среднем – $1,04 \pm 0,22$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии простейшими рода *Eimeria* в среднем составила 57,62%. Интенсивность инвазии в среднем – $1,97 \pm 0,57$ ооцист/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии цестодами рода *Moniezia* в среднем составила 5,62%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,83 \pm 0,25$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами рода *Fasciola* в среднем составила 1,01%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,05 \pm 0,02$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами подотряда *Paramphistomata* варьирует в среднем составила 26,78%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,75 \pm 0,39$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода *Capillaria* в среднем составила 1,71%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,05 \pm 0,03$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода *Trichocephalus* в среднем составила 0,71%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,03 \pm 0,02$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода *Strongyloides* в среднем составила 1,44%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,14 \pm 0,11$ яиц/1,0 фекалий.

В Гродненской области общая зараженность паразитами пищеварительной системы в среднем составила $81,58 \pm 3,09\%$. Моноинвазии зарегистрировали в $40,83 \pm 5,37\%$ случаев, двухкомпонентные ассоциации – $46,10 \pm 4,28\%$, трехкомпонентные ассоциации – $11,76 \pm 3,13\%$, четырехкомпонентные ассоциации – $1,31 \pm 0,08\%$.

Экстенсивность инвазии нематодами подотряда *Strongylata* составила в среднем – 75,64%. Интенсивность инвазии в среднем – $1,53 \pm 0,41$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии простейшими рода *Eimeria* составила в среднем – 38,88%. Интенсивность инвазии в среднем – $1,74 \pm 0,36$ ооцист/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии цестодами рода *Moniezia* составила в среднем – 8,63%. Интенсивность инвазии в среднем – $1,30 \pm 0,58$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами рода *Fasciola* составила в среднем – 17,38%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,28 \pm 0,08$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами подотряда *Paramphistomata* составила в среднем – 1,51%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,02 \pm 0,0$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода *Capillaria* составила в среднем – 2,22%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,02 \pm 0,01$ яиц/1,0 фекалий.

При проведении копроскопических исследований яиц нематод родов *Strongyloides* и *Trichocephalus* не обнаруживали.

В Минской области общая зараженность паразитами пищеварительной системы составила $78,26 \pm 4,07\%$. Моноинвазии были зарегистрированы в $57,10 \pm 5,09\%$ случаев, двухкомпонентные ассоциации – $34,88 \pm 4,40\%$, трехкомпонентные ассоциации – $6,88 \pm 2,69\%$, четырехкомпонентные ассоциации – $1,44 \pm 0,75\%$.

Экстенсивность инвазии нематодами подотряда *Strongylata* составила в среднем – 61,64%. Интенсивность инвазии в среднем – $1,53 \pm 0,57$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии простейшими рода *Eimeria* составила в среднем – 37,12%. Интенсивность инвазии в среднем – $2,17 \pm 0,83$ ооцист/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии цестодами рода *Moniezia* составила в среднем – 1,83%. Интенсивность инвазии варьирует от 0,2 до 1,9, в среднем – $0,49 \pm 0,30$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами рода *Fasciola* составила в среднем – 6,87%. Интенсивность инвазии варьирует от 0,04 до 1,20, в среднем – $0,23 \pm 0,16$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами подотряда *Paramphistomata* составила в среднем – 10,16%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,10 \pm 0,005$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода *Capillaria* составила в среднем – 0,52%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,02 \pm 0,01$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода *Trichocephalus* составила в среднем – 1,06%. Интенсивность инвазии варьирует в среднем – $0,05 \pm 0,03$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода *Strongyloides* составила в среднем – 1,33%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,21 \pm 0,19$ яиц/1,0 фекалий.

В Могилевской области общая зараженность паразитами пищеварительной системы составила $81,91 \pm 6,13\%$. Моноинвазии были зарегистрированы в $60,18 \pm 12,34\%$ случаев, двухкомпонентные ассоциации – $28,34 \pm 7,57\%$, трехкомпонентные ассоциации – $10,24 \pm 5,47\%$, четырехкомпонентные ассоциации – $1,23 \pm 0,0\%$.

Экстенсивность инвазии нематодами подотряда *Strongylata* в среднем составила 53,38%. Интенсивность инвазии в среднем – $1,49 \pm 0,93$ яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии простейшими рода *Eimeria* составила в среднем 22,69%. Интенсивность инвазии в среднем – $0,67 \pm 0,27$ ооцист/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии цестодами рода *Moniezia* составила в среднем 5,50%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,76±0,29 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами рода *Fasciola* составила в среднем 31,56%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,34±0,13 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами подотряда *Paramphistomata* составила в среднем 15,35%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,11±0,06 яиц/1,0 фекалий.

Общая зараженность овец паразитами пищеварительной и инспираторной систем по результатам копроскопических исследований в 2011-2012 году составила 86,96±7,04 %. Моноинвазии регистрировали 19,77±8,08 % случаев, двухкомпонентные ассоциации – 45,46±4,29 % случаев, трехкомпонентные ассоциации – 23,46±6,22 % случаев, четырехкомпонентные 10,61±4,30 % случаев, пятикомпонентные ассоциации – 0,69±0,0 % случаев.

Экстенсивность инвазии нематодами подотряда *Strongylata* составила в среднем – 70,68±6,90%. Интенсивность инвазии в среднем – 11,63±4,60 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии простейшими рода *Eimeria* составила в среднем – 62,81±5,41%. Интенсивность инвазии в среднем – 7,75±2,63 ооцист/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии цестодами рода *Moniezia* составила в среднем – 13,79±4,79%. Интенсивность инвазии в среднем – 8,51±3,07 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии трематодами рода *Fasciola* составила в среднем – 10,38±3,68%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,23±0,09 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода *Capillaria* составила в среднем – 2,52±0,0%. Интенсивность инвазии в среднем – 0,00±0,0 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода *Trichocephalus* составила в среднем – 4,67±2,51%. Интенсивность инвазии варьирует в среднем – 0,16±0,08 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами рода *Strongyloides* составила в среднем – 15,37±5,92%. Интенсивность инвазии в среднем – 2,86±0,0 яиц/1,0 фекалий.

Экстенсивность инвазии нематодами семейства *Protostrongylidae* составила в среднем – 8,43±3,62%. Интенсивность инвазии в среднем 0,57±0,0 личинок/1,0 фекалий.

Заключение.

Зараженность коров паразитами пищеварительной системы составила 82,0±2,16 %. Моноинвазии регистрировали 52,07±3,03 % случаев, двухкомпонентные ассоциации – 37,57±2,63 % случаев, трехкомпонентные ассоциации – 9,22±2,24 % случаев, четырехкомпонентные 1,18±0,37 % случаев.

Зараженность овец паразитами пищеварительной и инспираторной систем составила 86,96±7,04 %. Моноинвазии регистрировали 19,77±8,08 % случаев, двухкомпонентные ассоциации – 45,46±4,29 % случаев, трехкомпонентные ассоциации – 23,46±6,22 % случаев, четырехкомпонентные 10,61±4,30 % случаев, пятикомпонентные ассоциации – 0,69±0,0 % случаев.

Литература. 1. Гельминтоценозы жвачных животных и их профилактика / А.И. Ятусевич [и др.] // *Международный вестник ветеринарии*. – 2005. – № 2. – С. 29–31., 2. К проблеме мониезиса крупного и мелкого рогатого скота в Республике Беларусь / Мироненко В.М., Кирищенко В.Г. // *Материалы VII Международной научно-практической конференции «Экология и инновации»*. – Витебск: УО ВГАВМ, 2008 – 178-180с., 3. Кирищенко, В.Г. Сезонные особенности мониезиса жвачных / Кирищенко В.Г., Мироненко В.М. // *Исследования молодых ученых : Материалы IX Международной научно-практической конференции «Рациональное природопользование»* (г. Витебск, 27-28 мая 2010). – Витебск: УО ВГАВМ, 2010 – С.52-53., 4. Мироненко, В.М. Некоторые аспекты эпизоотологии мониезиса жвачных в республике Беларусь / В.М. Мироненко, А.И. Ятусевич, В.Г. Кирищенко // *Материалы докладов научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями»* (г. Москва, 17-19 мая 2011). – Москва: Российская академия сельскохозяйственных наук, Общество гельминтологов им. К.И. Скрябина, Всероссийский институт гельминтологии им. К.И. Скрябина. – вып.12, 2011 – С. 316-318., 5. Мироненко, В.М. Формирование паразитоценозов пищеварительной системы крупного рогатого скота / В.М. Мироненко, В.Г. Кирищенко // *Ученые записки УО ВГАВМ*. – Т.46. – вып. 1, ч.1. – Витебск, 2010. – С. 127-129., 6. Якубовский, М.В. Мониторинг эпизоотической ситуации по стронгилятозам желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота / М.В. Якубовский [и др.] // *Эпизоотология, иммунология, фармакология, и санитария*. – 2010. - № 2. – С. 7–12., 7. Ятусевич, А.И. Влияние мониезий в составе ассоциативных инвазий на микрофлору кишечника овец / А.И. Ятусевич, Мироненко В.М., Кирищенко В.Г., Сандул А.В., Субботина И.А. // *Ученые записки ВГАВМ*. – Т.45. – вып. 2, ч.1. – Витебск, 2009. – С. 205-208., 8. Ятусевич, А.И. Некоторые аспекты эпизоотологии мониезиса крупного рогатого скота в Республике Беларусь / А.И. Ятусевич, В.М. Мироненко, В.Г. Кирищенко // *Ученые записки УО ВГАВМ: научно-практический журнал*. – Том 47. – вып. 2, ч. 1. – Витебск, 2011. – С. 236–239.

Статья передана в печать 20.09.2012 г.

УДК 619:616:636.93

ВЛИЯНИЕ ОТОДЕКТОЗНОЙ ИНВАЗИИ НА ОРГАНИЗМ СЕРЕБРИСТО-ЧЕРНЫХ ЛИСИЦ И КОШЕК

Ятусевич А.И., Рубина Л.И.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

*Развитие клещей *O. cynotis* в коже серебристо-черных лисиц приводит к резкому нарушению функций кожи, вызывающему дисбаланс энергетических процессов в организме, изменению функций печени.*

*The development of mites *O. cynotis* in the skin of silvery – black fox is a cause of disturbance skin, as result the disturbance of energetic processes in organism, change functions of liver.*

Введение. Пушнина от различных видов охотничье-промысловых животных постоянно пользуется спросом на мировом рынке. В связи с этим во многих государствах мира пушных зверей стали разводить в неволе. Это прежде всего американская норка, голубой песец, серебристо-черная лисица, ондатра, нутрия и другие. В Республике Беларусь их разводят в 60 крупных и 40 малых звероводческих хозяйствах, в 7 специализированных звероводческих хозяйствах Белкоопсоюза. По оценке специалистов Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь ежегодный объем экспорта белорусской пушнины на мировой рынок составляет свыше 10-12 миллиардов рублей [2].

Анализ эффективности ведения клеточного пушного звероводства показывает, что имеется ряд проблем в прибыльном функционировании отрасли. Среди них очень важное место занимают вопросы профилактики и лечения инфекционных и инвазионных болезней из-за высокого отхода животных, бесплодия, снижения качества меха. В числе других паразитарных болезней большие экономические потери наносит отодектоз. Так, например, прирост живой массы у больных этой инвазией ниже на 11,4%, а шкурки меньше по размерам, с многочисленными дефектами. [4]

Целью нашей работы являлось совершенствование и внедрение эффективных мероприятий по борьбе с отодектозом плотоядных на основе изучения особенностей патогенеза болезни. С этой целью нами были проведены исследования крови у экспериментально и спонтанно зараженных животных.

Материал и методы исследований. Для изучения патогенного влияния клещей на организм животных 12 кошек были разделены на 3 опытные и 1 контрольную группы.

В системах: лисица – кошка (1 опытная группа); кошка – кошка (спонтанно инвазированное животное – котята (свободные от клещей 2- месячного возраста) – 2 опытная группа; кошка – кошка (спонтанно инвазированное животное кошка – котята 6-8- месячного возраста) – 3 опытная группа проводилось заражение плотоядных ушными клещами; 4 группа контрольная, животные заражению не подвергались.

Из 43 серебристо-черных лисиц, спонтанно инвазированных отодектесами, было сформировано 4 опытных, отобранные по стадиям течения заболевания, и одна контрольная (здоровые) группы.

Все животные находились в одинаковых условиях содержания и кормления. Отбор проб крови проводили до заражения и каждые 10 дней. Клинические наблюдения, морфологические и биохимические исследования крови проводили в течение всего опыта (60 дней).

Гематологические показатели изучали с использованием следующих методик: определение количества лейкоцитов и эритроцитов - путем подсчета в камере Горяева, содержание гемоглобина – циангемоглобиновым методом [1]. С целью определения влияния отодектозной инвазии на организм животных выполнялись биохимические исследования сыворотки крови. При этом оценивали: содержание общего белка – биуретовым методом; содержание альбуминов – реакцией с бромкрезоловым зеленым; концентрацию глюкозы – ферментативным глюкозооксидазным методом, уровень холестерина – по Ильку. Определение биохимических показателей проводили на автоматическом анализаторе фирмы Abbot «Spectrum II», «Eurolyser».

Результаты исследований. При анализе морфологического состава крови котят выяснено, что у всех подопытных животных изменения происходят после 10 дня исследования. Так, у котят первой опытной группы после внесения инвазионного начала, взятого от спонтанно инвазированной серебристо-черной лисицы, наблюдалось уменьшение количества эритроцитов к 40-му дню исследования с $8,75 \pm 0,25$ до $6,5 \pm 0,29 \times 10^{12}/л$, а к концу опыта оно снизилось до $5,25 \pm 0,48$ ($P < 0,01$) по сравнению с животными контрольной группы (здоровые животные, заражению не подвергались).

Содержание эритроцитов у животных второй опытной группы к 20 дню исследования уменьшилось с $8,29 \pm 0,54$ до $7,2 \pm 0,41 \times 10^{12}/л$ ($P < 0,05$), а к концу опыта – до $5,25 \pm 0,48$ ($P < 0,01$). В третьей подопытной группе содержание эритроцитов также уменьшилось к 30 дню исследования до $7,0 \pm 0,1 \times 10^{12}/л$ ($P < 0,01$), на момент последнего исследования крови оно составило $5,45 \pm 0,4$ ($P < 0,01$).

Инвазия в трех опытных группах в течение всего опыта сопровождалась постепенным снижением гемоглобина: у животных первой группы к 40-му дню - $110,2 \pm 3,82$ г/л ($P < 0,05$), второй группы – к 20-му дню $104,7 \pm 4,6$ г/л ($P < 0,05$), третьей – к 30-му дню - $98,5 \pm 1,19$ г/л ($P < 0,001$), по сравнению с контрольной группой.

Анализ содержания лейкоцитов показал, что болезнь сопровождается повышением их числа к 40-му дню исследования и до конца опыта у животных первой опытной группы с $16,7 \pm 0,8$ до $25,2 \pm 0,65 \times 10^9/л$ ($P < 0,01$), что на 49,9% выше, чем в контроле. Во второй и третьей группах количество лейкоцитов также увеличилось, соответственно с $16,25 \pm 1,10$ до $27,0 \pm 0,41 \times 10^9/л$ ($P < 0,001$) и с $19,75 \pm 1,25$ до $28,1 \pm 0,4 \times 10^9/л$ ($P < 0,001$) [3].

При анализе изменений морфологического состава крови серебристо-черных лисиц видно, что разница в снижении количества эритроцитов у лисиц, больных отодектозом (с I стадии по IV) по сравнению со здоровыми лисицами от 6,2% до 27,7%. Уровень гемоглобина у больных лисиц по сравнению со здоровыми снижается с 5,6 % до 9,2%, по стадиям развития. У всех лисиц, больных отодектозом на различных стадиях, количество лейкоцитов выше, чем у здоровых животных. У зверей на II, III и IV стадиях заболевания наблюдается тенденция увеличения количества лейкоцитов с 17,1% до 49,8%, по сравнению со здоровыми. По нашему мнению, такое увеличение лейкоцитов связано с осложнение патологического процесса патогенной микрофлорой.

При сравнении гематологических показателей крови больных животных прослеживается четкая тенденция к изменению показателей в зависимости от стадии развития заболевания, т.е. от широты охвата патологическим процессом кожи и выраженности клинических признаков. Постепенно в процессе развития отодектоза у животных отмечаются признаки анемии, развитие которой свидетельствует о

хроническом течении патологического процесса, сопровождающегося снижением аппетита, а также длительной интоксикацией организма продуктами воспаления, жизнедеятельности клещей и токсинами.

Поскольку все системы и органы организма находятся в тесной функциональной взаимозависимости, нарушение активности какого-либо органа неминуемо приведет к нарушению функций других органов и систем организма. Для определения влияния отодектозной инвазии на организм кошек и серебристо-черных лисиц нами были выполнены биохимические исследования сыворотки крови, полученной от зараженных и спонтанно инвазированных животных.

При анализе биохимических изменений, происходящих в сыворотке крови кошек под воздействием клеща *O. cynotis*, прослеживается постепенное развитие гиперпротеинемии. Так, у всех подопытных животных первые 10 дней наблюдения общий белок сыворотки крови находится в пределах физиологической нормы, а затем у животных первой группы увеличение содержания общего белка на 32% произошло к 40-му дню исследований, второй группы - на 16% к 20 дню наблюдения, третьей – 5,5% к 30 дню наблюдения, по сравнению с контролем.

Чтобы выяснить, увеличением какой из фракции белков вызван рост общего содержания белка в сыворотке крови, мы провели определение концентрации альбумина и глобулинов в сыворотке крови. Данные свидетельствуют о том, что при развитии инвазионного процесса концентрация альбумина в сыворотке крови кошек под воздействием клещей постепенно уменьшается. Так, у животных первой опытной группы концентрация альбумина к концу наблюдения по сравнению с контролем снизилась на 45%, второй – на 42,4%, третьей – на 26,6%. Содержание же глобулиновых фракций белков в сыворотке крови кошек всех подопытных групп превышало верхнее значение нормы и к концу опыта увеличилось у животных первой группы на 44%, второй – 51,1%, третьей – 16,1%.

При анализе белкового состава сыворотки крови серебристо-черных лисиц, больных отодектозом, наблюдается постепенное снижение общего количества белка. Минимальное количество его отмечено у зверьков, больных IV стадией болезни, что на 1,4 % ниже в сравнении со здоровыми животными. Существенные изменения происходят во фракции альбуминов. У инвазированных первой стадией заболевания концентрация альбуминов находится в тех же пределах, что и у здоровых, но затем, по мере развития инвазионного процесса, отмечается уменьшение содержания альбуминов, особенно у лисиц, больных IV стадией заболевания (на 1,15% ниже, чем у здоровых). При одновременном снижении содержания альбуминов увеличивается доля белков глобулиновой фракции сыворотки крови лисиц, больных III-й и IV-й стадиями заболевания.

Мы предполагаем, что развивается интоксикация организма животного продуктами метаболизма клещей, биологически активными веществами, образующимися в процессе воспаления кожи, и токсинами, выделяемыми населяющимися микроорганизмами, происходит нарушение синтезирующей функции печени, что приводит к развитию гипоальбуминемии. Поскольку клещи являются чужеродным началом для организма кошек и серебристо-черных лисиц, а их развитие происходит с поражением слоев кожи животных, то отодектозная инвазия приводит к мобилизации всех защитных сил организма, как неспецифических, так и специфических. Массовое размножение клещей и выделение ими продуктов метаболизма, являющихся антигенами, вызывает выработку большого количества антител, что, на наш взгляд, приводит к значительному росту глобулиновых фракций белков в процессе развития заболевания.

Уровень глюкозы в ходе инвазионного процесса в сыворотке крови кошек под воздействием клещей постепенно уменьшается с $7,66 \pm 0,6$ ммоль/л до $2,85 \pm 0,65$ ммоль/л ($P < 0,01$).

Углеводы служат основным источником энергии в организме животных. Около 60-75% потребности организма в энергии обеспечивается за их счет. Освобождение и накопление энергии происходит в результате анаэробного и аэробного расщепления углеводов. В коже хорошо представлены ферменты гликолиза. Это указывает на большую роль кожи, участвующей в анаэробном окислении глюкозы.

Мы полагаем, что под воздействием клещей в инвазионный процесс вовлекаются большие площади как поверхностных, так и глубоких слоев кожи внутренней поверхности ушной раковины кошек, а это в свою очередь, приводит к уменьшению площади функционально активной кожи и к нарушению анаэробных процессов расщепления глюкозы, происходящих в слоях кожи. Нарушение процесса гликолиза сопровождается снижением концентрации глюкозы в сыворотке крови кошек.

Холестерин является важным структурным компонентом нервной ткани, причем общее количество его в организме остается практически на одном уровне даже после длительного голодания животного. У зараженных кошек под воздействием клещей в сыворотке крови значительно снижается уровень холестерина. Так, у животных первой группы уровень холестерина снизился на 22,3%, второй – 20,2%, третьей – на 34%, по сравнению с контролем. При анализе содержания общего холестерина у зверьков, больных отодектозом, видно последовательное снижение его по сравнению со здоровыми животными. Разное снижение холестерина в сыворотке крови мы можем связать с одной из его функций: холестерин связывает токсины, поступающие в организм и образующиеся в нем. При паразитировании клещей происходит разрушение клеток кожи с выделением продуктов распада, которые являются токсинами. Холестерин связывает эти продукты, в результате чего значительно снижается его содержание в сыворотке крови. По нашему мнению, гипохолестеринемия указывает на развитие общей анемии.

Выводы.

1. Постепенное уменьшение абсолютного числа эритроцитов и уровня гемоглобина, общего холестерина у животных приводит к развитию анемии, что свидетельствует о развитии хронического течения патологического процесса.
2. Одновременное уменьшение содержания альбумина и увеличение доли белков глобулиновой фракции сыворотки крови плотоядных приводит к изменению функции печени.
3. Уровень глюкозы при развитии инвазионного процесса в сыворотке крови больных животных под воздействием клещей постепенно уменьшается.

Заключение. Поскольку клещи *O. cynotis* являются чужеродным началом для организма животного, поражающим глубокие слои кожи, то развитие отодектозной инвазии приводит к мобилизации всех защитных сил организма, как неспецифических, так и специфических.

Все вышеизложенное позволяет сделать заключение, что развитие клещей *O. cynotis* в коже больных животных приводит к резкому нарушению функции кожи, вызывающему дисбаланс энергетических процессов в организме, изменению функций печени.

Литература: 1. Берестов, В.А. Биохимия и морфология крови пушных зверей / В.А. Берестов. – Петрозаводск, 1971.: из-во «Карелия». – С. 12-39. 2. Методические рекомендации по терапии и профилактике отодектоза серебристо-черных лисиц и кошек / А. И. Ятусевич, Л. И. Рубина, И. А. Ятусевич / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск: ВГАВМ, 2009. – 26 с. 3. Рубина, Л. И. Влияние отодектозной инвазии на гематологические и биохимические показатели крови котят / Л. И. Рубина // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / Учреждение образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». – Витебск, 2010. – Т. 46, вып. 1, ч. 1. – С. 144–147. 4. Ятусевич, А.И. Справочник по ветеринарной и медицинской паразитологии / А.И. Ятусевич, И. В. Рачковская, В.М. Каплич. – Минск: Техноперспектива, 2011. – 242-245.

Статья передана в печать 12.09.2012 г.

УДК 619:576.895.1:636.1

АССОЦИАТИВНАЯ ИНВАЗИЯ ТРИХОНЕМАТИДОЗОВ ЛОШАДЕЙ БЕЛАРУСИ

Ятусевич А.И., Синяков М.П.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

*Гельминтозы желудочно-кишечного тракта лошадей с экстенсивностью инвазии до 93,2% имеют широкое распространение в хозяйствах Беларуси. Видовой состав гельминтов желудочно-кишечного тракта лошадей представлен 30 видами, среди которых 29 видов нематод и 1 цестода (*Anoplocephala perfoliata*). Доминирующими видами из семейства *Trichonematidae* (*Cyathostomatidae*) являются *Cyathostomum tetrakanthum*, *Cylicocyclus nassatus*, *Cylicostephanus longibursatus*, *Cylicostephanus goldi*, *Cyathostomum pateratum*, *Cylicocyclus insigne*, *Cylicostephanus minutus*, *Coronocyclus labiatus*; из семейства *Strongylidae* - *Strongylus equinus*, *Delafondia vulgaris*, *Alfortia edentatus*, *Triodontophorus serratus* и *T. brevicauda*. Установлена высокая экстенсивность параскариозной, оксиурозной и аноплоцефалидозной инвазий.*

*The intestinal helminthoses of horses has a wide spread in Belarus with the extension of 93,2%. The species composition of the intestinal helminthoses comprises 30 species including 29 nematodes and 1 cestode (*Anoplocephala perfoliata*). The predominant species of the *Trichonematidae* (*Cyathostomatidae*) family are *Cyathostomum tetrakanthum*, *Cylicocyclus nassatus*, *Cylicostephanus longibursatus*, *Cylicostephanus goldi*, *Cyathostomum pateratum*, *Cylicocyclus insigne*, *Cylicostephanus minutus*, *Coronocyclus labiatus*; of the *Strongylidae* family are *Strongylus equinus*, *Delafondia vulgaris*, *Alfortia edentatus*, *Triodontophorus serratus* u *T. brevicauda*. A high extensivity of the *paraascaris*, *oxyurius* and *anoplocephalus* intestation has been revealed.*

Введение. Во всем мире сохраняется интерес и внимание к лошадям. В настоящее время лошади играют важную роль в развитии физической культуры и здоровья людей, способствуют улучшению их эстетического вкуса. Как показывают исследования последних лет, использование лошадей при лечении детей, больных ДЦП, дает очень высокий положительный эффект. Лошади являются незаменимыми продуцентами ряда биологически активных веществ в биологической и медицинской промышленности [2,4,7]. Наряду с прочим, лошади используются в целях охраны общественного порядка, в последнее время в областных центрах нашей республики активно идет создание отрядов конной милиции

В силу ряда анатомо-физиологических особенностей лошади очень чувствительны к различным заболеваниям. Особенно подвержен воздействию патологических агентов желудочно-кишечный тракт лошадей. Среди патологий желудочно-кишечной системы лошадей выделяются заболевания, вызываемые гельминтами. Наличие гельминтозных инвазий у лошадей существенно сказывается на их общем состоянии, приводя к снижению работоспособности, выносливости, защитных сил организма. Кроме того, длительное инвазирование лошадей гельминтами ухудшает их экстерьерные и фенотипические качества [1, 2, 3, 6,9, 10].

У лошадей в толстом кишечнике происходят основные процессы по перевариванию корма. Под влиянием кишечной микрофлоры толстого кишечника происходит расщепление клетчатки до жирных кислот с выделением газа. Также в толстом кишечнике происходит всасывание воды и электролитов. Поражение толстого кишечника нематодами из семейства *Strongylidae* и *Trichonematidae* (*Cyathostomatidae*) приводит, прежде всего, к нарушению всасывания воды из просвета кишечника, значительно увеличивая объем фекалий. Слизистая оболочка толстой кишки под воздействием гельминтов раздражается, происходит гиперплазия железистых клеток, содержащихся в ней, и повышение их секреции. Поскольку слизистая оболочка толстых кишок имеет только простые общекишечные железы, выделяющие слизь, отмечается обильное выделение слизи с фекальными массами. Дальнейшее развитие воспалительных процессов приводит к секреции электролитов и развитию секреторной диареи [3,6,7].

Поскольку клиническое проявление основной массы гельминтозов, поражающих желудочно-кишечный тракт лошадей, не имеет специфических признаков, то единственно достоверным методом постановки диагноза на гельминтозы на данный момент является проведение лабораторных исследований фекальных масс. Однако в силу ряда обстоятельств проведение гельминтологического обследования лошадей ветеринарными специалистами на производстве затруднено. При таком положении вещей проведение противопаразитарных мероприятий должно базироваться на знаниях эпизоотологической ситуации по гельминтозам, которые по лошадям недостаточно изучены в Республике Беларусь.

Целью исследований являлось изучение распространения ассоциативной инвазии трихонематид лошадей в природно-климатических условиях Беларуси (в возрастном аспекте) и оценка эффективности антигельминтных препаратов авермектинового ряда.

Материал и методы. Для достижения поставленной цели нами проведено полное гельминтологическое вскрытие толстого отдела кишечника 107 лошадей, убитых на Витебском мясокомбинате, у которых было собрано более 20000 экземпляров гельминтов. Все гельминты, обнаруженные в просвете желудочно-кишечного тракта, были отобраны, зафиксированы в растворе Барбагалло и в дальнейшем идентифицированы. Для идентификации молодых половозрелых форм гельминтов использовали определители Г.М. Двойноса и Т.И. Поповой [2,4,5]. Количество самок и самцов доминирующих видов подсчитывали с помощью счетчика форменных элементов крови. Измерения проводили с помощью окуляр-микрометра. Количество лепестков наружной радиальной короны (НРК) и внутренней радиальной короны (ВРК) подсчитывали на апикальных срезах.

Обследованные животные относятся к разным возрастным группам: жеребят (от 3 месяцев до года) - 53 особи, молодняк (от года до 3 лет) - 20 животных, взрослые (старше 3 лет) - 34 особи.

В хозяйствах Витебского района провели исследование сравнительной эффективности антигельминтных препаратов (универм, ривертин 1%, авермектиновая паста 1%, паста эквисект) при ассоциативном течении трихонематидозной инвазии лошадей.

Результаты исследований. Результаты наших исследований показывают, что общая экстенсивность инвазии лошадей гельминтами, паразитирующими в различных отделах желудочно-кишечного тракта, составляет 93,2%. При этом существенное влияние как на видовой состав гельминтов, паразитирующих в желудочно-кишечном тракте лошадей, так и на экстенсивность и интенсивность инвазии оказывает возраст животных (таблица 11).

Таблица 11

Результаты полного гельминтологического вскрытия желудочно-кишечного тракта лошадей на Витебском мясокомбинате

№	Вид гельминта	Возраст					
		жеребят		молодняк		взрослые	
		n=53		n=20		n=34	
		ЭИ%	ИИ	ЭИ%	ИИ	ЭИ%	ИИ
1	<i>Cyathostomum tetracanthum</i>	84,9	++++	100	++++	100	++++
2	<i>C. pateratum</i>	84,9	+++	100	+++	100	+++
3	<i>Cylicocycclus nassatus</i>	84,9	++++	100	++++	100	++++
4	<i>C. insigne</i>	45,3	+	85	+	91,2	+
5	<i>C. ultrajectinus</i>	-	-	80	+	14,7	+
6	<i>C. leptostomus</i>	7,5	+	35	+	20,6	+
7	<i>C. radiatus</i>	-	-	-	-	5,8	+
8	<i>C. elongatus</i>	1,9	+	-	-	-	-
9	<i>Cylicostephanus longibursatus</i>	77,4	+++	95	+++	94,1	+++
10	<i>C. goldi</i>	64,1	++	100	+++	91,2	+++
11	<i>C. minutus</i>	71,7	+++	85	++	88,2	+ / +++
12	<i>C. calicatus</i>	15	+ / +++	55	+ / +++	53	+ / +++
13	<i>C. hybridus</i>	-	-	15	+	20,6	+
14	<i>Coronocycclus labiatus</i>	-	-	100	++	100	++
15	<i>C. coronatus</i>	1,9	+	10	+	5,8	+
16	<i>C. sagittatus</i>	-	-	5	+	-	-
17	<i>Gyalocephalus capitatus</i>	-	-	-	-	5,8	+
18	<i>Poteriostomum ratzii</i>	-	-	5	+	2,9	+
19	<i>Cylicodontophorus mettami</i>	3,8	+	15	+	5,8	+
20	<i>C. bicoronatus</i>	-	-	-	-	2,9	+
21	<i>Cylicotetrapedon bidentatus</i>	-	-	10	+	2,9	+

Примечание: + низкая интенсивность инвазии;
 ++ средняя интенсивность инвазии;
 +++ высокая интенсивность инвазии;
 ++++ очень высокая интенсивность инвазии.

При идентификации молодых и половозрелых форм гельминтов п/о *Strongylata* достоверно определены следующие виды: *Cyathostomum tetracanthum*, *Cylicocycclus nassatus*, *Cylicostephanus longibursatus*, *Cylicostephanus goldi*, *Cyathostomum pateratum*, *Cylicocycclus insigne*, *Cylicostephanus minutus*, *Coronocycclus labiatus*, *Cylicostephanus calicatus*, *Cylicocycclus ultrajectinus*, *Cylicocycclus leptostomus*, *Cylicostephanus hybridus*, *Cylicodontophorus mettami*, *Coronocycclus coronatus*, *Cylicotetrapedon bidentatus*,

Gyalocephalus capitatus, *Poteriostomum ratzii*, *Cylicocyclus radiatus*, *Cylicodontophorus bicoronatus*, *Coronocyclus sagittatus*, *Cylicocyclus elongatus*.

Пораженность на сто процентов гельминтами, паразитирующими в различных отделах желудочно-кишечного тракта, отмечена нами у лошадей в возрасте до 1 года и старше 15 лет. У лошадей этих же возрастных групп выявлено паразитирование наибольшего количества видов трихонематид – 21. Интенсивность инвазии желудочно-кишечными гельминтами у лошадей в возрасте до 1 года значительно ниже, чем в остальных возрастных группах. С увеличением возраста лошадей возрастает и интенсивность инвазии гельминтами, достигая максимума у животных старше 15 лет.

Заражение лошадей всех возрастных групп стронгилидами желудочно-кишечного тракта находится практически на одном уровне – 96-100%, при этом самыми массовыми их видами являются *Cyathostomum tetracanthum*, *C. pateratum*, *Cylicocyclus nassatus*, *C. insigne*, *Cylicostephanus longibursatus*, *C. goldi*.

Результаты наших исследований показывают, что у большого количества лошадей паразитирует по несколько десятков видов паразитов различных родов и семейств, среди которых представители семейства *Strongylidae*, такие как *Strongylus equinus*, *Delafondia vulgaris*, *Alfortia edentatus*, *Triodontophorus serratus* и *T. brevicauda*, *Craterostomum acuticaudatum*. Кроме того, в просвете тонкого кишечника лошадей выявлено большое количество нематод из семейства *Ascaridae* - *Parascaris equorum*, а в просвете толстого кишечника идентифицировано паразитирование нематод *Oxyuris equi* и цестод *Anoplocephala perfoliata*.

Как показали результаты наших исследований, наиболее эффективными антигельминтными препаратами при трихонематидозах лошадей являются препараты авермектинового ряда: универм, ривертин 1%, авермектиновая паста 1%, паста эквисект.

Универм - порошок серого цвета со слабым специфическим запахом, негигроскопичен, в воде не растворяется, легко смешивается с кормом. В 100 г препарата содержится 0,2 г аверсектина С. Универм при кишечных нематодозах применяют лошадям внутрь двукратно с интервалом в сутки индивидуально или групповым методом в дозе 0,1 мг/кг живой массы (по АДВ).

Ривертин 1% (синоним: гранулят ивертин) представляет собой мелкие гранулы от кремового до светло-желтого цвета, округлой, цилиндрической или неправильной формы. В 1 г препарата содержится 10 мг ивермектина. Препарат задают животным внутрь в смеси с кормом (сухим или увлажненным) в утреннее кормление в дозе 20 мг/кг живой массы (0,2 мг/кг по АДВ) два дня подряд.

Авермектиновая паста 1% - в состав препарата входит 1% действующего вещества аверсектина С и вспомогательные формообразующие и стабилизирующие компоненты. Препарат представляет собой однородную пастообразную массу светло-коричневого цвета со слабым специфическим запахом. Препарат применяют лошадям однократно индивидуально перорально в дозе 2 г/100 кг живой массы (0,2 мг/кг по АДВ). Пасту выдавливают на корень языка из шприца-дозатора, который вводят в межзубное пространство ротовой полости, затем на несколько секунд приподнимают голову животного. Паста обладает достаточной липкостью, что предотвращает ее выплевывание. Нужный объем пасты устанавливается перемещением гайки по штоку и фиксацией соответствующей дозы. Каждое деление шприца рассчитано на 100 кг массы животного. Один шприц рассчитан на обработку одной лошади массой 700 кг.

Эквисект паста - антипаразитарный препарат системного действия. Паста эквисект содержит 1% действующего вещества аверсектина С и вспомогательные компоненты (полиэтиленоксид-1500, полиэтиленоксид-400, глицерин дистиллированный, поливинилпирролидон и твин-80). Препарат представляет собой однородную пастообразную массу светло-коричневого цвета со слабым специфическим запахом. Препарат применяют лошадям однократно индивидуально перорально в дозе 2 г/100 кг живой массы (0,2 мг/кг по АДВ). Пасту эквисект применяют, как и авермектиновую пасту 1%.

Заключение. Экстенсивность инвазии лошадей гельминтами, паразитирующими в различных отделах желудочно-кишечного тракта, составляет 93,2%. Пораженность пищеварительной системы лошадей гельминтами в значительной степени зависит от условий их содержания, а также от возраста животных.

В желудочно-кишечном тракте лошадей на территории Республики Беларусь паразитируют 30 видов гельминтов, из них 29 нематод и одна цестода: *Cyathostomum tetracanthum*, *Cylicocyclus nassatus*, *Cylicostephanus longibursatus*, *Cylicostephanus goldi*, *Cyathostomum pateratum*, *Cylicocyclus insigne*, *Cylicostephanus minutus*, *Coronocyclus labiatus*, *Cylicostephanus calicatus*, *Cylicocyclus ultrajectinus*, *Cylicocyclus leptostomus*, *Cylicostephanus hybridus*, *Cylicodontophorus mettami*, *Coronocyclus coronatus*, *Cylicotetrapedon bidentatus*, *Gyalocephalus capitatus*, *Poteriostomum ratzii*, *Cylicocyclus radiatus*, *Cylicodontophorus bicoronatus*, *Coronocyclus sagittatus*, *Cylicocyclus elongatus*, *Strongylus equinus*, *Delafondia vulgaris*, *Alfortia edentatus*, *Triodontophorus serratus* и *T. brevicauda*, *Craterostomum acuticaudatum*, *Parascaris equorum*, *Oxyuris equi*, *Anoplocephala perfoliata*.

Гельминтозы лошадей протекают в ассоциации и с высокой интенсивностью инвазии, поражая при этом все отделы желудочно-кишечного тракта. Для снижения интенсивности инвазии кишечных паразитозов необходимо ежегодно проводить плановые профилактические дегельминтизации животных.

Литература. 1. Акбаев, М.Ш. Паразитология и инвазионные болезни животных / М.Ш. Акбаев [и др.]. – М.: Колос, 2000. – С. 89-296. 2. Двойнос, Г.М. Стронгилиды домашних и диких лошадей / Г.М. Двойнос, В.А. Харченко. - Киев: Наукова думка, 1994.- 233 с. 3. Диагностика, терапия и профилактика паразитарных болезней лошадей: учеб.-метод. пособие / А.И. Ятусевич [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2011. – С. 5-32. 4. Ивашкин, В.М. Определитель гельминтозов лошадей / В.М. Ивашкин, Г.М. Двойнос. - Киев: Наукова думка, 1984.- С. 20-129. 5. Попова, Т.И. Основы нематодологии: Стронгилоидеи животных и человека: Трихонематиды / Т.И. Попова.– М., Том 7, 1958. - С. 7-147. 6. Рекомендации по борьбе с гельминтозами лошадей / А.И. Ятусевич [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2008. - 14 с. 7. Рекомендации по применению противопаразитарных препаратов в коневодческих хозяйствах Беларуси / А.И. Ятусевич [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2012.- 39 с. 8. Справочник по разведению и болезням лошадей / А.И. Ятусевич [и др.]

УДК 619:615.1:001

РОЛЬ ФАРМАЦЕВТИКИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ГОСУДАРСТВА

Ятусевич И.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

В работе излагаются проблемы появления новых болезней животных, возвращения считавшихся девастированными патологий, разработки новых лекарственных средств, подготовки научных и научно-педагогических кадров для фармацевтической промышленности.

This paper outlines the problems of new animal diseases were considered returning devastirovannymi pathologies, developing new medicines, training of scientific and scientific-pedagogical personnel for the pharmaceutical industry.

Устойчивое обеспечение населения качественным продовольствием является важнейшей задачей функционирования каждого государства. В Республике Беларусь достигнуты большие успехи в обеспечении продовольственной безопасности. Кроме того, активно развивается экспорт животноводческой продукции. Поставлена на ближайшие годы задача – довести его до 7-9 млрд. долларов США. В реализации указанной цели большое значение придается ветеринарному благополучию животноводства. В настоящее время в мире зарегистрировано свыше 500 инфекционных и инвазионных болезней, из которых 198 относятся к болезням, общим для животных и человека (А.И. Ятусевич с соавт., 2011). За последние годы выявлено более 20 новых болезней. Имеет место тенденция к возврату заболеваний животных, считавшихся девастированными. Не поддается подсчету количество незаразных болезней, наносящих огромный экономический ущерб.

Совсем недавно серьезной проблемой для 25 государств Европы и других континентов была губчатая энцефалопатия крупного рогатого скота. В процессе оздоровления от нее в странах Евросоюза уничтожено свыше 4 млн. голов крупного рогатого скота. По сведениям МЭБ, еще около 3 млн. животных были убиты на мясокомбинатах, а продукты их убоя реализованы на продовольственные цели, что может привести к заболеванию смертельно опасной болезнью около 70 тыс. человек (Ятусевич А.И. с соавт., 2011).

В 12 государствах мира в настоящее время установлена новая болезнь – блютанг (синий язык). Все большее распространение получает африканская чума свиней. Только в России вспышки болезни отмечены в 118 регионах, 221 неблагополучном пункте. Огромные потери понесли многие государства мира из-за угрозы возникновения вспышек птичьего и свиного гриппа.

По данным многих исследователей, только в странах Юго-Восточной Азии по причине птичьего гриппа уничтожено около 160 млн. цыплят-бройлеров.

Ежегодно регистрируется в различных регионах мира ящур. В 2011 г. эта опасная болезнь диагностирована в 14 странах мира.

Таким образом, для обеспечения безопасности государства нужна не только высококвалифицированная, хорошо организованная ветеринарная служба, но и в ее распоряжении должен быть полный арсенал биологических и химиотерапевтических препаратов.

В настоящее время биологическими препаратами (вакцины, сыворотки, диагностикумы) животноводство республики обеспечено почти полностью. Лишь незначительная часть вакцин, преимущественно для птицеводства, ввозится из-за пределов республики. При этом большое значение имеет нормальное функционирование Витебской биофабрики. Для предотвращения вспышек инфекционных болезней требуется около 800 млн. доз вакцин.

В то же время для профилактики и терапии некоторых заразных и незаразных болезней, улучшения функционального состояния организма животных, качества и поедаемости корма требуется не менее 750 млн. доз химиопрепаратов, в т.ч. биостимуляторов, консервантов и т.п.

Например, без применения противозимериозных средств не обходится ни одна птицефабрика в мире. При этом экономические потери в промышленном птицеводстве только от зймериоза возросли до 800 млн. долларов. Для нормального функционирования животноводческой отрасли требуется 1100-1200 химиопрепаратов. Оборот лекарственных средств для нужд животноводства в Республике Беларусь составляет, по самым скромным подсчетам, около 560 млрд. рублей.

Для сравнения: рынок медицинской фармпродукции у нас составляет 750 млн. долларов. Фармацевтический рынок Евросоюза оценивается приблизительно в 400 млрд. долларов (Николаева Н., 2010).

В соответствии с концепцией продовольственной безопасности нашего государства собственное производство ветеринарных препаратов должно составлять 80-85 %, импорт – 15-20%. В группу ввозимых лекарственных средств должны быть включены преимущественно препараты, имеющие ограниченное использование в животноводческом производстве, что экономически нецелесообразно.

В конце 80-х годов прошлого столетия Витебская биофабрика и 4 небольших фармпредприятия произвели 4-10% лекарственных средств от числа необходимых для обеспечения благополучия отечественного животноводства. Небольшие объемы производства фармацевтических средств обусловлены слабой материальной базой и отсутствием необходимых квалифицированных кадров.

Предпринятые меры правительства нашего государства позволили в последние годы резко улучшить ситуацию. Этому способствовали принятие Национальным собранием РБ закона «О ветеринарной деятельности», а также республиканские программы по развитию производства ветеринарных препаратов («Государственная программа развития ветеринарных препаратов и инструментов, используемых в ветеринарии, на 2005-2008 годы», утверждена СМ РБ 30 марта 2005 г. и «Государственная программа развития производства ветеринарных препаратов на 2010-2015 годы», утверждена СМ РБ 23 марта 2010 года №454).

Предпринятые меры позволили уже в 2010 году довести производство ветеринарных препаратов до 60,5%, а к 2015 году запланировано этот показатель довести до 80%. К примеру, в России производится 15% от необходимого объема, в то время как в 1992 году эти объемы составили 70-90% (Антипов В.А., 2012).

Вместе с тем, выполнение государственных программ производства лечебно-профилактических средств ставит ряд новых необходимых задач. В первую очередь должны быть поставлены цели перед химиками и биотехнологами в части изыскания биологических и химических средств в качестве действующих веществ. Подготовка фармацевтов в Витебском государственном медицинском университете и Витебской государственной академии ветеринарной медицины должна быть переориентирована на основе введения специализации – по выпуску специалистов высочайшей квалификации, по изысканию новых и совершенствованию существующих лечебных и профилактических средств, т.е. выпускники должны составлять основу «мозговых» центров. Эти ученые должны в дальнейшем стать научными руководителями своеобразных конструкторских бюро при фармпредприятиях. Только коммерческая деятельность, может привести Витебскую биофабрику и фармпредприятия «в никуда». Эта же участь ждет и частные предприятия, почти не занимающиеся производством ветпрепаратов. Подготовка провизоров является важной составляющей в фармацевтической области. В Республике Беларусь функционирует свыше 500 государственных и частных аптек, 28 зооветснабов, около 5000 агрокомбинатов, птицефабрик, высокотехнологичных комплексов и ферм по производству животноводческой продукции, сельскохозяйственных кооперативов, рыбхозов, зверохозяйств, в которых должны быть хорошая материальная база для хранения ветеринарных препаратов и высококвалифицированные узкопрофильные специалисты с возможностью надлежащей профессиональной консультации по применению средств защиты животных. В Республике Беларусь основной упор в разработке новых средств защиты животных делается на ученых Белорусского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского и Витебской государственной академии ветеринарной медицины. Ученые этих учреждений должны прилагать усилия к разработке систем и мер по недопущению распространения особо опасных и новых заразных болезней, сопровождающихся массовой гибелью животных, а также болезней общих для животных и человека. Не остается в стороне от внимания белорусских ученых и проблема качества животноводческой продукции. Поэтому для фармацевтической промышленности необходимо готовить специалистов по конкретному направлению, с глубокими знаниями в области биотехнологии и химии.

Вместе с тем следует отметить, что многие страны не занимаются изысканием новых препаратов и используют так называемые дженерики. Действующие вещества в лекарственных формах, закупаемые нашими фармпредприятиями, относятся в основном к веществам химического и микробиологического синтеза.

Разработка лекарственного препарата – сложный и длительный процесс, требующий усилий высококвалифицированных и талантливых специалистов различных профилей – химиков, фармакологов, технологов, клиницистов. Как пишет Черепок М. (2010), мировая практика показывает, что продолжительность работ по созданию и выпуску оригинального препарата для нужд здравоохранения составляет 8-10 лет, а стоимость инновационного проекта - около 250 млн. долларов США. На подобные разработки в Беларуси уходит в среднем 5-7 лет при объеме финансирования в 200-300 тыс. долларов. На освоение производства дженериков требуется до 3-4 лет при затратах 100-170 тыс. долларов. Очевидно, что такая продолжительность исследований и финансовые затраты будут аналогичными и в ветеринарной медицине, так как многие из ветеринарных и медицинских препаратов имеют одни и те же действующие вещества.

Ни одно государство мира не стремится производить все необходимые средства терапии и профилактики болезней животных. В высокоразвитых странах выпускаются лишь дорогостоящие субстанции, требующие современного оборудования и экологически безопасных процессов. Многие крупные фармацевтические компании организуют производство дешевых субстанций на территории Китая, Индии, Бразилии и некоторых других стран. Например, в Китае около 6 тыс. заводов, выпускающих широкий ассортимент фармацевтических субстанций разного назначения.

Доля дженериков на российском фармацевтическом рынке, по разным оценкам, колеблется от 78 до 95%. В других странах она тоже достаточно высокая: в Германии – 35%, Франции – 50%, Польше – 61% (Трухачева Т., 2010).

Изыскание новых фармакологических средств – процесс непрерывный и обусловлен рядом причин, важнейшие из которых следующие:

- интенсивный рост продуктивности животных (высокие удои молока, приросты массы тела и т.д.) требует применения все более новых, более эффективных средств укрепления здоровья животных;
- появление новых и возвращение старых болезней, против которых нет активных новых препаратов для воздействия на этиологические факторы;

- привыкание возбудителей инфекционных и паразитарных заболеваний к применяемым лекарственным средствам, что ведет к снижению их эффективности;
- многие препараты обладают побочным действием, что требует необходимости изыскания более качественных ветеринарных препаратов;
- значительная часть лекарственных средств отрицательно влияет на качество животноводческой продукции, следовательно, их необходимо исключить из арсенала препаратов для защиты животных;
- некоторые препараты, особенно дезинфектанты, инсектоакарициды являются экологически опасными, загрязняя объекты внешней среды.

Литература 1. Ятусевич, А.И. Настоящее и будущее ветеринарной фармацевтической промышленности в Беларуси // А.И. Ятусевич, В.А. Самсонович, А.М. Субботин / Белорусское сельское хозяйство 2011. 2. Антипов, В.А. Научно-методическое обеспечение ветеринарной фармации /Материалы II Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвященного 80-летию заслуженного деятеля науки РФ проф. Соколова В.Д. - С.Петербург, 2012. – С. 29-32. 3. Черепок, М. Новые вершины фармпромышленности // Наука и инновации, 2010, №10. – С. 5-8. 4. Трухачева, Т. Труд во имя здоровья // Наука и инновации, 2010, №10. – С. 14-17. 5. Ятусевич, А.И., Безбородкин Н.С., Картунова И.И. История ветеринарной медицины Беларуси. - Витебск: ВГАВМ, 2011. - 430 с.

Статья передана в печать 03.09.2012 г.

УДК 619:616.99-095.37:615:28

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ИММУНОПАТОЛОГИИ ПРИ ПАЗАИТАРНЫХ БОЛЕЗНЯХ ЖИВОТНЫХ

Ятусевич И.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

В работе излагаются теоретические основы иммунологии при паразитарных болезнях животных. Анализируется состояние изученности иммуносупрессивного влияния паразитов на организм хозяев. Приведены данные литературы и собственные исследования по изучению эффективности иммуностимуляторов в качестве средств неспецифической терапии и профилактики гельминтозов и некоторых протозоозов.

In this paper the theoretical foundations of immunology in parasitic diseases of animals. Analyzes the state of knowledge the immunosuppressive effects of parasites on their hosts. Given the literature and our own research on the effectiveness of immunostimulants as a means of non-specific treatment and prevention of helminthiasis and some protozoosov.

Введение. Среди биологических наук иммунология занимает особое место, т.к. иммунная система животных и человека обеспечивает постоянство внутренней среды организма путем распознавания и выведения из него чужеродных агентов (Петров Р.В., 1976; Даугалиева Э.Х., Филиппов Ю.В., 1991; Тузова А.В. Юсковец Р.В., Ковалев Н.А., 2006). Она изучает нормальные структуры и функции иммунологической системы, в то же время иммунопатология исследует нарушение структур и функций иммунологической системы (Красочко П.А., Лысенко А.П., 2008). Наиболее точно определение иммунологии, на наш взгляд, приведено в работе Красочко П.А. с соавт. (2008), которые пишут, что она является наукой об иммунитете, изучающей молекулярные и клеточные механизмы реагирования организма на генетически чужеродные субстанции, именуемые антигенами. Поступление во внутреннюю среду организма веществ с признаками чужеродной информации грозит нарушением структурного и химического состава этого организма. Количественное и качественное постоянство внутренней среды обеспечивается процессами саморегуляции живых систем. Важнейшее свойство иммунной системы – различать разнообразие собственных и чужих детерминант (эпитопов) и давать на них дифференцированные ответы, что обеспечивается соответствующим разнообразием молекул трех главных типов иммунологических рецепторов: антигенраспознающих иммуноглобулиновых рецепторов главного комплекса гистосовместимости (Красочко П.А., Красочко И.А., 2008). Одним из основных в иммунологии является понятие «антиген» - вещество, стимулирующее какой-либо тип иммунного ответа с образованием продуктов, специфически реагирующих с антигеном и обеспечивающих защиту организма (Лысенко А.П., 2008).

Иммунитет при паразитарных болезнях имеет ряд специфических особенностей в сравнении с таковым при бактериальных и вирусных заболеваниях. Более того, имеются существенные отличия развития иммунологических реакций при протозоозах, гельминтозах и арахноэнтомозах. Так, при гельминтозах более выражены гуморальные факторы, при протозоозах – клеточные. Наибольшее число исследований посвящено изучению иммунитета при гельминтозах (Шихобалова И.П., 1950; Лейкина Е.С., 1976; Леутская З.А., 1990; Филиппов В.В., 1991; Якубовский М.В., 1986, 2000; Санин А.В. с соавт., 2010; Красочко П.А., Якубовский М.В., Ятусевич А.И., 2011). При этом иммунологические процессы организма хозяина характеризуются реакцией гиперчувствительности замедленного типа, активизацией макрофагов, усилением цитотоксической активности, изменением функционирования Т- и В-систем, включением гуморального звена (Даугалиева Э.Х., Филиппов В.В., 1991).

Известно, что паразиты в процессе своего развития проходят несколько стадий, которые отличаются по своему антигенному составу. Это существенно затрудняет выработку иммунитета. С другой стороны, паразиты (гельминты и членистоногие) являются многоклеточными, что также обуславливает выработку значительного числа разнообразных по своей структуре антигенов. Для организма антигенами являются также выделяемые секреты и экскреты, содержащие ферменты (Ятусевич А.И. с соавт., 2007; Акбаев М.Ш. с соавт., 2008). Развитию паразита в организме хозяина способствует такой феномен как иммунологическая индукция. Сущность ее заключается в том, что гельминты способны изменять процесс синтеза белка в зависимости от особенностей протеиногенеза у промежуточного и окончательного хозяина с образованием общих белковых антигенов (A. Caron et al., 1986).

Установлено, что паразиты выделяют иммунодепрессивные вещества, что способствует усиленному развитию их в организме хозяина. Вместе с тем, наличие их приводит к отсутствию или слабой иммунной реакции хозяина при применении вакцин и других биопрепаратов (Ятусевич А.И., 1989; Олехнович Н.И., 1990). Таким образом, в процессе эволюции у паразитов появился ряд свойств, позволяющих снизить естественную резистентность и иммунную реактивность хозяина. Указанные обстоятельства приводят к возникновению иммунодефицитных состояний. По данным Красочко П.А., Ятусевича А.И. (2010) более 80% животных имеют различные отклонения в деятельности иммунной системы, что повышает риск заболеваемости острыми болезнями, обусловленными оппортунистическими (условно-патогенными) микроорганизмами.

Большинство исследователей различают следующие виды иммунитета при паразитозах (Сихобалова И.П., 1950; Лейкина Е.С., 1976).

Врожденный иммунитет характеризуется полной или частичной невосприимчивостью животного к данному паразиту. Типичным примером данного вида иммунитета является устойчивость животных к бычьему и свиному цепню, которые паразитируют в имагинальной стадии только у человека. Другие же паразиты имеют ограниченный круг хозяев. Исходя из взаимной приспособленности, паразитов и их хозяев подразделяют на две большие группы:

1. облигатные хозяева и паразиты;
2. факультативные хозяева и паразиты;

Облигатные хозяева определенного (облигатного) паразита обеспечивают последнему наибольшую приспособляемость, выживаемость и плодовитость.

В факультативных хозяевах паразиты развиваются лишь в определенных условиях и в ограниченном количестве.

Врожденный иммунитет характеризуется первичным иммунологическим состоянием организма, он не связан (активно или пассивно) с приобретенными защитными факторами, а обусловлен исторической принадлежностью хозяина к той или иной группе биологических организмов (Даугалиева Э.Х., Филиппов В.В., 1991).

Факторами, определяющими врожденную устойчивость хозяина к паразитам, являются следующие:

1. Видовая принадлежность хозяина и генетическая предрасположенность.
2. Возраст животных.
3. Неспецифические факторы защиты (наличие в организме активных специфических веществ).
4. Гормональная активность, особенно влияние эстрогенов.

Многочисленные данные белорусских исследователей свидетельствуют о широком распространении паразитарных болезней среди домашних и диких животных (Жариков И.С., Егоров Ю.Г., 1977; Якубовский М.В., 1987; Ятусевич А.И., 1989, 2012).

Благоприятные природно-климатические условия Республики Беларусь создают исключительные предпосылки для формирования сложной паразитарной системы во внешней среде и в организме животных. Сочлены этой системы оказывают на организм хозяина как непосредственное, так и опосредованное влияние, выражающееся в механическом, токсическом и сенсibiliзирующем воздействии. Вместе с тем, многие паразитические организмы существенно влияют на биохимические процессы в организме животных, что сопровождается нарушением многих функций, в т.ч. снижением качества животноводческой продукции.

Реакция организма хозяина на воздействие паразита и его метаболитов своеобразная и характеризуется развитием адаптационных процессов.

Особого внимания заслуживает состояние иммунных процессов у больных паразитозами животных. Данные наших исследований (И.А. Ятусевич, 2010) свидетельствуют о снижении естественной резистентности и иммунной реактивности у больных паразитозами животных, что подтверждают показатели уровня общего белка, белковых фракций, лизоцима, бактерицидной активности сыворотки крови, эозинофильная и нейтрофильная реакция.

Анализ полученных собственных результатов, а также данные Якубовского М.В. (1987), Ятусевича А.И. (1989), Олехновича Н.И. (1990) и др. свидетельствуют о возникновении иммунодефицитного состояния у больных паразитозами животных. Учитывая, что при инвазионных болезнях средства специфической профилактики почти отсутствуют или не нашли широкого применения, существует острая необходимость изыскивать эффективные иммуностимуляторы для коррекции иммунитета, низкий уровень которого вызван паразитами, а также некоторыми противопаразитарными средствами (Красочко П.А., Якубовский М.В., Ятусевич А.И., 2011).

По мнению Санина А.В. с соавт. (2010), эти препараты должны обладать одновременно и детоксикантной, и (или) антиоксидантной активностью. Оптимальный клинический эффект, по мнению Толурия Л.Ю. с соавт. (2010), может быть достигнут только при наличии синергизма в действии жизненных сил организма и лекарственных средств, особенно иммуностимуляторов.

Перечень иммуностропных препаратов достаточно велик и постоянно увеличивается. Согласно классификации Irob P.I., Fontana A. (1982), иммуностимуляторы делятся на три группы: биологического, микробного и синтетического происхождения.

Из множества лекарственных средств, обладающих иммуностимулирующим действием, все большее внимание исследователей привлекают препараты природного происхождения, значительная часть из которых имеет ряд преимуществ (многоплановое влияние на организм животных, низкая токсичность, стимуляция процессов регенерации, ослабление действия стресс-факторов, ростостимулирующий эффект, повышение активности этиотропного препарата) (Толурия Л.Ю. с соавт., 2010).

Фармакологическая коррекция иммунодефицитных состояний является важной частью успешного лечения болезней животных.

Одним из старых препаратов, который успешно применяют в качестве иммуностимулятора, является метилурацил, стимулирующий гемопоэз, фагоцитоз, белковый обмен, обладает противовоспалительным действием. Назначение его в дозе 20 мг/кг массы тела 5-дневным курсом профилаксирует заражение овец стронгилятами до 95%, а при использовании совместно с панакурсом (10 мг/кг по АДВ) снижало летний подъем инвазирования гельминтами, увеличивались приросты массы тела, восстанавливалась пищеварительная функция кишечника, активизировались Т- и В-системы, повышалось содержание иммуностимуляторов (Якубовский М.П. с соавт., 2012).

Лизоцим является одним из неспецифических факторов защиты организма, представляет собой термостабильный белок типа муколитического фермента, содержится во всех органах и тканях (Плященко С.И., Сидоров В.Т., 1979). Предполагается, как указывают Тузова А.В. – Юсковец Р.В. и Ковалев Н.А. (2006), что лизоцим синтезируется в тканевых макрофагах молодыми нейтрофилами, макрофагами крови и др.

Помимо антибактериальной активности, установлены свойства лизоцима стимулировать защитные функции организма (Герберт У.Д., 1974; Петров Р.В., 1983). С практической целью лизоцим применен в 1931 г. Ермольевой З.В. и Буяновским И.С. для лечения синуситов, отитов, ангин и конъюнктивитов (Ермольева З.В. с соавт., 1963). В последующем Николаевский И.И. (1954) успешно испытал его в гинекологии. Лаптенков В.Н. (1985) рекомендует применять лизоцим для профилактики послеоперационных стрессов в свиноводстве.

Во ВНИИ прикладной энзимологии разработана технология получения ферментного препарата лизоцима путем глубинного культивирования *Bacillus subtilis* ДК-1.

Ятусевичем А.И. (1989) изучалась возможность применения ферментного препарата лизоцима ГЗх в качестве средства, повышающего естественную резистентность и иммунную реактивность поросят, а также неспецифического препарата для профилактики эймериозов и изоспороза.

В опытах на 14 поросятах 68-дневного возраста, зараженных 200±4,8 тыс. ооцист эймерий и изоспор, при применении лизоцима по 50 ед./кг живой массы было установлено, что у животных опытной группы максимальная интенсивность эймериозно-изоспорозной инвазии составляла 47,3±4,05 ооцисты. В группе, получавшей витамин С (80 мг/кг сухого корма) – 586,7±31,76.

В группе, не получавшей препарата – 698 ±82 ооцисты. При этом имело место очень тяжелое течение болезни. В опытной группе было повышено содержание эритроцитов, лизоцима, бактерицидная активность сыворотки крови, фагоцитоз (на 13,5%). Эти показатели были также повышенными и в группе, получавшей витамин С. В производственных условиях установлена 100% сохранность поросят при назначении лизоцима ГЗх, а среднесуточный прирост массы тела составил 343 г., при назначении витамина С – 95,9% и 293 г., в группе, не получавшей препарат – соответственно 90% и 256 г.

Существенно уменьшилась инвазированность и другими паразитами, что подтверждено в дальнейшем специально проведенными опытами (Ятусевич И.А., Самсонович В.А., Ятусевич А.И.)

В опытах на 12 поросятах, разделенных на опытную и контрольную группы (по 6 голов) и зараженных личинками стронгилоидов, было установлено следующее.

В группе поросят (первая), получавшей внутрь лизоцим в дозе 50 мг/кг массы, приживаемость стронгилоидов была на 62% ниже, чем во второй группе поросят, не получавшей препарат. Приросты массы за 2 недели опыта составили соответственно 235 г и 187 г

Несмотря на высокую инвазирующую дозу (10 тыс. на 1кг массы тела личинок стронгилоидов), общее состояние поросят опытной группы было хорошим. Каких-либо отклонений в клиническом статусе поросят не отмечено. Были выше показатели содержания эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина, общего белка, глобулиновых фракций, фагоцитоза, лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови.

В опытах на 42 поросятах отъемного возраста (опытная группа) и 11 животных контрольной группы установлено, что при скармливании лизоцима ГЗх в дозе 50 ед./кг живой массы интенсивность выделения яиц аскаридов снизилась на 83%, трихоцефал – 65%, эзофагостом – 74 %, стронгилоидов – на 76%. Однако полного прекращения выделения яиц гельминтов не наблюдалось.

При вскрытии поросят опытной группы в среднем в кишечнике поросят было обнаружено 6 аскаридов, 12 – трихоцефал, 7 – эзофагостом. В контрольной группе соответственно 13, 1 и 42 паразита. Из полученных результатов следует заключить, что применение лизоцима ГЗх резко снижает интенсивность гельминтозной инвазии поросят. Это связано, по нашему мнению, со свойствами препарата повышать естественную резистентность и иммунную реактивность поросят.

Альвеозан представляет собой липополисахарид, полученный из бактериальной массы возбудителя европейского гнильца пчел *Bacillus alvei*. Согласно данным Красочко П.А. с соавт. (2008), препарат обладает стимулирующими свойствами в отношении специфического и неспецифического иммунитета (повышает лизоцимную и бактерицидную активность сыворотки крови, β-лизимов, иммуноглобулинов, титр интерферона). Авторами успешно испытан препарат для усиления иммунитета при вакцинациях против вирусных и бактериальных болезней сельскохозяйственных животных и птиц,

повышения продуктивности цыплят-бройлеров, в акушерско-гинекологической практике, для профилактики аскариоза, стронгилятозов, фасциолеза, токсокароза.

Нами (Ятусевич И.А., Самсонович В.А.) были проведены опыты по изучению приживаемости *Strongyloides ransomi* в кишечнике поросят при экспериментальном заражении внутрь 10 тыс. личинок на 1 кг массы тела. Было установлено, что назначение альвеозана 3-дневным курсом в дозе 7 мг/кг сухого вещества 1 раз в день снижает приживаемость стронгилоидов на 69%, в дозе 10 мг/кг – на 77%. Наблюдались существенные различия в приросте массы животных (на 91 г среднесуточный прирост массы в контрольной группе был ниже). Анализ морфологического и биохимического состава крови свидетельствует о положительном влиянии альвеозана на организм поросят.

Левамизол – широко распространенный антигельминтный препарат ветеринарного и медицинского назначения. Кроме противопаразитарных свойств, установлено его высокое иммуностимулирующее действие, заключающееся в активизации Т-системы, фагоцитарной активности нейтрофилов. В наших опытах на поросятах-отъемышах установлено, что экстенсэффективность левамизола в дозе 7,5 мг/кг массы при аскариозе составила 95,3%, эзофагостомозе - 97%, трихоцефалезе – 92,9%. Вместе с тем в группе, получавшей данный препарат, среднесуточные приросты массы были на 23% выше, чем у поросят контрольной группы.

Содержание общего белка было выше на 18%, иммуноглобулинов – на 23%, фагоцитарная активность нейтрофилов – на 27 %.

Азотобактерин – препарат, который получают путем микробиологического синтеза с использованием бактерий группы азотобактер. Впервые эти микроорганизмы получены Бейеринком М. в 1901 г из почвы и воды (Ятусевич А.И., 1989). Из 17 видов азотобактерий хорошо изучены и широко применяются в сельском хозяйстве *Ag. chroococcum*, *Ag. vinellondii* и *Ag. agile*. Кроме азотфиксирующих свойств, они активно продуцируют биологически активные вещества (витамины группы В, никотиновую, фолиевую кислоты, биотин, гетероауксин, гиббереллин, полный набор аминокислот и антибиотик антифундин. По количеству синтезирующих биологически активных веществ азотобактерии не уступают таким кормам как молоко, рыба, пшеничная мука, ячменный солод, пивные дрожжи (Канарская Н.Б., Нагорный Ю.Г., 1983). Изучение азотобактерина проведено Ятусевичем А.И. (1989-2012). В лабораторных и производственных опытах было установлено, что под влиянием азотобактерина при назначении его в дозе 1-5 мл/кг массы внутрь происходит уменьшение интенсивности эймериозно-изоспоровозной инвазии в течение 7-8 дней от $160,3 \pm 6,98$ – $154 \pm 6,63$ ооцисты в п.з.м. до $2,6 \pm 1,2$ – $3,33 \pm 1,85$. В конце опыта содержание лизоцима было выше в опытных группах на 21,9% ($P > 0,05$), а бактерицидной активности сыворотки крови – на 14,6%-15,4% ($P < 0,01$). Среднесуточные приросты массы составили в опытных группах 318-324г, в контроле – 297 г. Таким образом, было доказано наличие ростостимулирующих и иммуностимулирующих свойств азотобактерина. За счет факторов, повышающих естественную резистентность поросят, происходило снижение интенсивности эймериозно-изоспоровозной инвазии.

Практический интерес представляет препарат иммунопаразитан, обладающий антипаразитарными свойствами на основе длительной активизации иммунной системы. Это подтверждено многочисленными исследованиями ученых (Якубовский М., Щемелева Н., 2012). Нами были проведены опыты по выяснению антигельминтных свойств иммунопаразитана у крупного рогатого скота, спонтанно инвазированного кишечными нематодами. При этом экстенсэффективность препарата в дозе 3 мл трехкратно с интервалом 7 дней при стронгилятозах тонкого и толстого кишечника составила 91,6%, при стронгилоидозе - 82,0%.

Красочко П.А. с соавт. (2011) сообщают, что перспективными иммуностимулирующими препаратами при паразитозах являются гистаглобулин, мебикар, аминовит, градекс, вегетан, ронколейкин и другие.

Заключение. Постоянство внутренней среды обеспечивается процессами саморегуляции живых систем. Важнейшее свойство иммунной системы заключается в способности различать разнообразие собственных и чужих детерминант и давать на них дифференцированные ответы. Иммунитет при паразитарных болезнях имеет специфические особенности, в т.ч. отличается при гельминтозах, протозоозах и арахноэнтомозах. Паразиты способны изменять процесс синтеза белка в зависимости от особенностей протеиногенеза у промежуточного и окончательного хозяина. Паразиты выделяют иммунодепрессивные вещества, что способствует развитию иммунодефицитов, которыми страдают до 80% животных. Указанные обстоятельства требуют разработки средств, обладающих иммуностимулирующим эффектом. Широкое распространение имеет применение метилурацила, который профилактирует ряд гельминтозов животных. Все большее значение находит применение препарата лизоцим, который повышает иммунореактивность и естественную резистентность, снижает интенсивность заражения эймериями и гельминтами. Перспективным препаратом является альвеозан, полученный из бактериальной массы возбудителя американского гнильца. Использование его при стронгилоидозе показало, что препарат резко снижает приживаемость стронгилоидов. Левамизол является высокоэффективным средством для применения в ветеринарной медицине, обладая одновременно иммуностимулирующим и антигельминтными свойствами. Значительно снижает эймериозную инвазию азотобактерин, получаемый из азотфиксирующих бактерий.

Имеется ряд других иммуностимуляторов, перспективных для терапии и профилактики иммунодефицитов паразитарной этиологии, однако значительная часть из них синтезируется из дорогостоящего биологического и химического сырья, что сказывается на решении проблемы иммунодефицитов в животноводстве.

Литература 1. Петров Р.В. Иммунология и иммуногенетика. – М.: Медицина, 1976. – 290 с. 2. Федоров Ю.Н. Иммунокоррекция: применение и механизм действия иммуномоделирующих препаратов / Ю.Н. Федоров // Ветеринария. – 2005. – №2. – С. 3-6. 3. Даугалиева Э.Х., Филиппов В.В. Иммунный статус и пути его коррекции при гельминтозах сельскохозяйственных животных. М.: Агропромиздат, 1991. – 187 с. 4. Тузова-Юсковец Р.В., Ковалев

Н.А. Классическая и современная иммунология. – Минск : Белорусская наука, 2006. – 691 с. 5. Красочко П.А., Лысенко А.П. Иммунология как наука. В монографии «Иммунокоррекция в клинической ветеринарной медицине». – Минск : Техноперспектива, 2008. – С. 5-10. 6. Красочко П.А., Якубовский М.П., Красочко И.А., Лысенко А.П., Еремец В.И., Прудников В.С., Ятусевич А.И., Ковалев Н.А., Борознов С.Л., Машеро В.А., Голушко В.М., Мишаева Н.П., Кучинский М.П., Малашко В.В., Веремей Э.И., Красочко П.П., Малашко Д.В., Степанова Е.А., Еремец Н.Г., Еремец Н.К. Иммунокоррекция в клинической ветеринарной медицине. – Минск: Техноперспектива, 2008. – 507 с. 7. Красочко П.А., Красочко И.А. Виды иммунитета. В монографии «Иммунокоррекция в клинической ветеринарной медицине». – Минск : Техноперспектива, 2008. – С. 11-15. 8. Лысенко А.П. Антигены. В монографии «Иммунокоррекция в клинической ветеринарной медицине». – Минск: Техноперспектива, 2008. – С. 53-55. 9. Шихобалова И.П. Вопросы иммунитета при гельминтозах. – М. : Издательство АН СССР, 1950. – 184 с. 10. Леутская З.К. Некоторые аспекты иммунитета при гельминтозах (роль витаминов и гормонов в иммунологическом процессе). – М. : Наука, 1990. – 208 с. 11. Якубовский М.В. Кишечные нематодозы свиней (эпизоотология, патогенез, меры борьбы и профилактика). Автореф. дисс....д-ра вет.наук. М., 1987. – 33 с. 12. Якубовский М.В. Применение иммуностимуляторов в ветеринарии // Ветеринарное дело, 2012. – №2(8). – С. 23-25. 13. Ятусевич А.И. Заразные болезни, общие для животных и человека / А.И. Ятусевич [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2011. – 480 с. 14. Санин А.В., Сосновская О.Ю., Санина В.Ю., Кожевникова Т.Н., Васильев И.К., Наровленский А.Н., Пронин А.В. Особенности применения иммуномодуляторов при паразитарных инвазиях // Ветеринария Кубани, 2010. – №2. – С. 15-18. 15. Красочко П.А., Якубовский М.В., Ятусевич А.И. Эффективность иммуномодуляторов при паразитарных болезнях животных // Ветеринария сельскохозяйственных животных, 2011. – №12. – С. 4-7. 16. Ятусевич А.И., Карасев Н.Ф., Якубовский М.В. Паразитология и инвазионные болезни животных. – Минск: ИВЦ Минфина, 2007.–580 с. 17. Акбаев М.Ш., Водянов А.А., Косминков Н.Е., Ятусевич А.И., Пашкин П.И. Паразитология и инвазионные болезни животных. – Москва: Колос, 2008. – 743 с. 18. Ятусевич А.И. Эймериозы и изоспорозы свиней (этиология, эпизоотология, патогенез, симптоматика, терапия и профилактика). Автореф. дисс....д-ра вет.наук. Ленинград, 1989. – 36 с. 19. Олехнович Н.И. Ассоциативные паразитозы желудочно-кишечного тракта свиней в Белоруссии и меры борьбы с ними. Автореф. дисс....канд. вет.наук. Минск, 1990. – 22 с. 20. Лейкина Е.С. Иммунитет при гельминтозах. Основы общей гельминтологии. М. : Наука, 1976. – Т.3. – С. 89-168. 21. Красочко П.А., Ятусевич А.И. Механизмы иммунологической защиты организма. В монографии «Иммунокоррекция в клинической ветеринарной медицине». – Минск : Техноперспектива, 2008. – С. 115-117. 22. Жариков И.С., Егоров Ю.Г. Гельминтозы жвачных животных. Минск: Ураджай, 1977. – 175 с. 23. Ятусевич А.И., Абрамов С.С., Максимович В.В., Шляхтунов В.И., Бабина М.П. и др. Выращивание и болезни молодняка. – Витебск: ВГАВМ, 2012, 814 с. 24. Irob P.L., Fontona A. Immunastimulenzien und infektionskrankheiten // Ther Umschr – 1982. – V 32. – №9. – S. 668-674. 25. Топурия Л.Ю., Топурия Г.М. Основные принципы иммунокоррекции в ветеринарной медицине // Ветеринария Кубани, 2010. – №4. – С. 3-4. 26. Плященко С.И., Сидоров В.Т. Естественная резистентность организма животных. – М.: Колос, 1979. – 184 с. 27. Герберт У.Д. Ветеринарная иммунология. – М.: Колос, 1974. – 211 с. 28. Ермольева З.В., Фурер Н.М., Равич И.В. и др. Экспериментальное изучение лизоцима // Антибиотики. – 1963. - №1. – С.39-45. 29. Лаптенко В.Н. Резистентность молодняка, выращиваемого в промышленных комплексах, и пути ее повышения. – 1985. 30. Канарская Н.Б., Нагорный Ю.Т. Эффективность азотобактерина при кокцидозе // Ветеринария, 1973. - №8. – С.85. 31. Ятусевич А.И. Эймериозы и изоспорозы свиней (этиология, эпизоотология, патогенез, симптоматика, терапия и профилактика). Дисс....д-ра.вет.наук. Витебск, 1989. – 527 с. 32. Ятусевич А.И., Абрамов С.С., Максимович В.В. и др. Справочник по выращиванию и болезням свиней. – Витебск, 2012. – 814 с. 33. Красочко П.А., Якубовский М., Ятусевич А. Эффективность иммуномодуляторов при паразитарных болезнях животных // Ветеринария сельскохозяйственных животных. - №12. – 2011. – С. 4-7. 34. Якубовский М., Щемелева Н. Применение иммуностимуляторов в ветеринарии // Ветеринарное дело, №2(8), 2012. – С. 23-26.

Статья передана в печать 05.09.2012 г.

УДК 619:616.615.33;591.112.1

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА ЦЕФИНЕЛЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ МАРЕКА

Авдосьева И. К., Остапив Н. В., Чайковская А. И., Балян О. З.

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

В статье приведены результаты исследований влияния нового противомикробного препарата цефинель, действующим веществом которого является цефтиофур — антибиотик третьего поколения цефалоспоринов, производства ООО «Киевмедпрепараты», на эффективность вакцинации против болезни Марека (БМ). Установлено, что при одновременном применении препарата цефинель и вакцины против БМ цыплятам в суточном возрасте, пораженным *E. Coli*, повысились средние титры в 1,5 раза, эффективность вакцинации против БМ составила 75 %, коэффициент вакцинации — больше 1,5. В течение 21 суток повысился процент сохранности и средняя масса птицы. При применении суточным цыплятам цефинеля одновременно с вакцинацией повышается эффективность специфической профилактики против БМ и снижается иммуносупрессивное действие условно-патогенной микрофлоры.

The article presents test results of influence of new antimicrobial medicinal product cefinel, active substance of which is ceftiofur – antibiotics of third generation of cephalosporins, produced by "Kyivmedpreparaty" Ltd on efficacy of vaccination against Marek's disease. It was set that simultaneous application of cefinel and vaccines against Marek's disease to chicken at one-day age infected by *E. coli* raised average titres by 1,5, efficacy of vaccination against Marek's disease was 75 %, coefficient of vaccination – above 1,5. During 21 days percentage of survival and average poultry weight are increasing. At application to one-day chicken of cefinel simultaneously with vaccination efficacy of specific prophylaxis against Marek's disease is increasing and immunosuppressive action of pathogenic microflora is decreasing.

Введение. Одним из наиболее распространенных вирусных заболеваний, которые наносят значительный экономический ущерб промышленному птицеводству, является болезнь Марека (БМ). Вакцинация птицы – один из способов ее защиты от БМ, который применяют парентерально в первые часы жизни цыплят или вводят вакцину в 18-суточный эмбрион [1–3]. Контаминация цыплят условно-патогенной микрофлорой в инкубаторе приводит к снижению эффективности вакцинации против БМ и экономических показателей при выращивании птицы. Одним из путей преодоления иммуносупрессивного действия условно-патогенной микрофлоры является применение противомикробных препаратов одновременно с парентеральным введением вакцины против БМ. На сегодняшний день внедрение новых эффективных противомикробных препаратов, в том числе цефалоспоринов, особенно третьего поколения, которые занимают ведущее место при лечении заболеваний бактериальной этиологии в ветеринарной медицине, является ограниченным, но это не касается применения таких антибиотиков, как цефапирин и цефтиофул, утвержденных для использования продуктивным животным.

Цефалоспорины являются важным классом противомикробных препаратов, которые, как и пенициллины, относятся к группе β -лактамов антибиотиков, но в основе их химического строения лежит 7-аминоцефалоспориновая кислота (7-АЦК). Первый антибиотик группы цефалоспоринов (цефалоспорин С) был выделен из гриба *Cephalosporium acremonium*, а впоследствии было создано большое количество полусинтетических цефалоспориновых антибиотиков.

Основными особенностями антибиотиков этой группы, по сравнению с пенициллинами, является их большая резистентность к β -лактамазам (пенициллиназам) – ферментам, вырабатываемым микроорганизмами, которые достаточно быстро разрушают бензилпенициллин, а также имеют широкий спектр противомикробного действия (включая воздействие на грамотрицательные микроорганизмы).

Учитывая структуру, спектр действия и устойчивость к β -лактамазам, цефалоспорины разделяют на 4 группы:

- первого поколения (цефалоридин, цефапирин, цефазолин, цефалексин и др.);
- второго поколения (цефаклор, цефокситин, цефотиам и другие);
- третьего поколения (цефотаксим, цефтриаксон, цефтиофул и другие);
- четвертого поколения (цефпиром, цефепим).

Цефалоспорины нашли применение не только в гуманной медицине, но и в ветеринарной. Так, антибиотики третьего поколения (цефтиофул) и четвертого поколения цефалоспоринов (цефквином) были разработаны исключительно для лечения животных. Несколько цефалоспоринов первого и второго поколений применяются в большинстве случаев для лечения маститов у коров.

Фактором, ограничивающим применение цефалоспоринов, является развитие резистентности микроорганизмов в результате продуцирования ими β -лактамаз. Современные антибиотики группы цефалоспоринов третьего и четвертого поколения отличаются высокой терапевтической эффективностью, широким спектром действия и минимальным токсическим воздействием на организм животного. Однако за последние десять лет во всем мире наблюдается существенное повышение развития резистентности к противомикробным препаратам этой группы у микроорганизмов, таких как *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* и *Pseudomonas spp.* [4]. В Европе высокую устойчивость к цефалоспоринам третьего и четвертого поколения показала *Klebsiella pneumoniae* [5].

Обеспокоенное растущей угрозой для людей, а именно: инфицирование устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами, являющимися возбудителями многих инфекционных заболеваний, Управление по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными препаратами США (FDA) ограничило с 6 апреля 2012 года использование некоторых антибиотиков для крупного рогатого скота, свиней и домашней птицы [6]. Эксперты считают широкое применение антибиотиков в животноводстве и птицеводстве основным источником устойчивых к противомикробным препаратам штаммов бактерий. Решение FDA по ограничению использования цефалоспоринов не касается использования таких антибиотиков, как цефапирин и цефтиофул, утвержденных для использования продуктивным животным.

Цефтиофул – цефалоспориновый антибиотик третьего поколения, который впервые был описан в 1987 году. Активен к широкому спектру микроорганизмов, возбудителей заболеваний крупного рогатого скота, свиней, лошадей и цыплят, а именно: *Pasteurella (Mannheimia) haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus somnus*, *Streptococcus suis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis*, *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides melaninogenicus (Porphyromonas asacharolytica)*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus equi*, *Pasteurella spp.*, *Staphylococcus spp.* Кроме того, *in vitro* выявлена его активность к таким грамположительным и грамотрицательным микроорганизмам: *Actinomyces pyogenes*, *Salmonella tumphurium*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus bovis*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Bacillus spp.* и *Proteus spp.* Цефтиофул был одобрен в разных странах мира для профилактики ранней смертности, вызванной *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, у однодневных цыплят и индюшат.

Цефтиофул является действующим веществом цефинеля. Механизм действия заключается в угнетении синтеза клеточной стенки бактерий. Учитывая, что в инкубаторе происходит контаминация цыплят условно-патогенной микрофлорой и снижается эффективность вакцинации против БМ, возникла необходимость применения новых антибиотиков с целью профилактики смертности цыплят и повышения иммунного ответа на введение вакцины против БМ.

Цефинель – порошок белого или бледно-желтого цвета. Один флакон содержит действующее вещество: цефтиофул натриевой соли стерильной в пересчете на безводное вещество – 1,0 г. Препарат применяется для профилактики повышенной гибели цыплят, вызванной кишечной палочкой и стафилококком.

Целью нашей работы было определение влияния противомикробного препарата цефинель на эффективность вакцинации птицы против БМ и экономические показатели при выращивании птицы.

Материалы и методы исследований. Цыплята яичного кросса Тетра СЛ; цефинель, производства ООО "Киевмедпрепарат", серия 30511; вакцина против БМ (замороженная бивалентная клеточно-ассоциированная живая), набор для определения антител к БМ. Для бактериологических исследований патматериала от цыплят использовали МПА, МПБ, МППБ, селенитовую среду, элективные среды – агар Плоскирева, среду Эндо. Технологические параметры выращивания птицы яичного кросса Тетра СЛ (температурный и световой режим, плотность посадки) были выдержаны согласно нормам. Кормление осуществлялось согласно нормам, которые рекомендованы для кросса Тетра СЛ.

Клинические испытания цефинеля проводили на цыплятах суточного возраста яичного кросса Тетра СЛ в птичнике № 1 по схеме: 1 группа (опыт) – вводили цефинель подкожно в области шеи в дозе 0,2 мл препарата на 1 голову + вакцина против БМ, 2 группа (контроль) – вводили вакцину против БМ.

Средний уровень специфических антител к БМ определяли в сыворотках крови в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА). Одновременно учитывали клиническое состояние птицы, процент сохранения, прироста. Проводили бактериологические исследования патматериала от суточных цыплят. На 21 сутки определяли эффективность и коэффициент вакцинации против ХМ.

Схема проведения испытаний цефинеля приведена в таблице 12.

Таблица 12

Схема проведения испытаний цефинеля (n=400)

Группы	Схема применения препарата	Метод применения
1 опытная	Вакцинация против БМ + цефинель	подкожно
2 контрольная	Вакцинация против БМ	подкожно

Результаты исследований. При бактериологическом исследовании патматериала от односуточных цыплят из крови сердца и трубчатой кости была выделена *E. coli*.

Данные динамики массы тела цыплят при испытании препарата цефинель приведены в таблице 13.

Таблица 13

Динамика массы тела цыплят при испытании цефинеля

Группы	Возраст/сутки			
	1	7	14	21
1 опытная	36,5	69,0	123,0	185,0
2 контрольная	36,5	65,0	118,0	178,0
Г		+4,0	+5,0	+7,0
%		+5,8	+4,1	+3,8

Средняя масса тела птицы в опытной группе по сравнению с контролем на 21 сутки была выше на 3,8 %. Данные серологических исследований сывороток крови на наличие специфических антител против БМ при применении антибиотика цефинель приведены в таблице 3.

При применении цефинеля у цыплят в суточном возрасте средние титры против БМ в опытной группе были выше в 1,5 раза по сравнению с контролем. Групповой иммунитет против БМ на 21 сутки составил в опытной группе 75 %, в то время как в контроле – 40 %.

Таблица 14

Данные серологических исследований сывороток крови на наличие специфических антител против БМ при применении антибиотика цефинель (РНГА)

Группы	Возраст /сутки	Средний титр, \log_2
1 опытная	6	3
	21	5,2
2 контрольная	6	2,8
	21	3,0

В течение 21 суток в контрольной группе процент сохранности поголовья составил 99,5, тогда как в контроле – 97. Эффективность вакцинации против БМ при одновременном применении цефинеля составляла 75 %. Коэффициент вакцинации был выше в 1,5 раза.

Заключение. Установлено, что при применении противомикробного препарата цефинель цыплятам в суточном возрасте, от которых был выделен штамм *E. coli*, вакцинированных против БМ, средние титры в опытной группе были выше в 1,5 раза по сравнению с контролем. Групповой иммунитет против БМ на 21 сутки составил в опытной группе 75 %, тогда как в контроле – 40 %. В течение 21 суток в контрольной группе процент сохранности составил 99,5, тогда как в контроле – 97. Эффективность вакцинации против БМ при одновременном применении цефинеля составляла 75 %. Коэффициент вакцинации был выше в 1,5 раза. Средняя масса птицы в опытной группе по сравнению с контролем на 21 сутки была выше на 3,8 %.

Исследование влияния антибиотиков на повышение эффективности вакцинации против вирусных заболеваний будет способствовать поиску новых подходов к созданию эффективных противомикробных препаратов, которые будут влиять не только на эффективность вакцинаций и снижение иммуносупрессивного действия условно-патогенной микрофлоры, но способствовать повышению экономических показателей при выращивании птицы.

Литература. 1. Смоленский В. И. Эффективность вакцин против вирусных болезней птиц / Ветеринария. — 2001. — № 1. — С. 2., 2. Келнек Б. У. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц — М.: Аквариум Бук, 2003.

— С. 426–465. 3. Mazukiewicz M. *Choroby drobiu*. — Wrocław. — 2005. — P. 425–445. 4. Schwaber M., Carmeli Y. *Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteremia: a systematic review and meta-analysis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2007. — 60. — P. 913–20. 5. Livermore D. M., Canton R., Gniadkowski M. *CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. — 2007. — 59. — P. 165–74. 6. *Cephalosporin Order of Prohibition Goes Into Effect*. — FDA. — April 6, 2012.

Статья передана в печать 18.07.2012 г.

УДК 619:616.98:579.84:615.373:636.4

ИНАКТИВАЦИЯ И КОНЦЕНТРАЦИЯ АНТИГЕНА ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА И БОРДЕТЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ

*Вербицкий А.А., **Финогенов А.Ю., **Толяронок Г.Е.

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

**РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси»,
г. Минск, Республика Беларусь

В статье авторами изложена информация по изучению режимов инактивации антигена и определению его концентрации при конструировании вакцины против пастереллеза и бордетеллеза свиней.

The article features the data on studying the antigen inactivation techniques and determining its concentration for developing a vaccine against porcine pasteurellosis and bordetellosis.

Введение. Одной из основных причин снижения рентабельности на свиноводческих комплексах промышленного типа являются болезни органов дыхания. По происхождению и клинико-морфологическому проявлению они весьма разнообразны.

Анализ заболеваемости свиней в странах Европы и Америки показывает, что на долю болезней органов дыхания приходится 35-40%. В свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь респираторная патология составляет 30-35% и более.

Пастереллез в нашей стране занимает третье место по распространенности среди бактериальных заболеваний. В плане противозооотических мероприятий - четвертое место. Немалую опасность представляет и бордетеллез проявляющийся у свиней ринитом и пневмонией. Сочетанная инфекция возбудителей бордетеллеза и пастереллеза приводит к возникновению атрофического ринита, который является одной из форм позднего проявления бордетеллеза. Эта болезнь регистрируется почти во всех странах мира, где выращиваются элитные породы свиней с высокой энергией роста. Плохие условия содержания (скученность, низкая температура и высокая влажность воздуха, вызывающие воспаление дыхательных путей) повышают скорость распространения инфекционного атрофического ринита и усиливают признаки болезни [3].

I. Vauwems et al. [6] установили, что бордетеллезная пневмония приводит к замедлению роста тела на 2,6%, снижению усвояемости кормов на 12%, в результате для достижения живой массы до 100 кг возникает необходимость удлинять сроки откорма на один месяц. Абовян А.В. [1], F. Dugal et al. [7], L. Maguar et al. [8], изучая зависимость суточных приростов свиней от степени поражения их пневмонией и атрофическим ринитом, отмечали, что их среднесуточный прирост уменьшался на 3,3 – 5,2 и более процентов.

Основным звеном в мероприятиях по борьбе с бордетеллезом и пастереллезом является специфическая профилактика. Приведенная выше информация свидетельствует о необходимости разработки вакцины для профилактики пастереллеза и бордетеллеза свиней. Все выпускаемые вакцины, в зависимости от состояния в них антигенной фазы делятся на живые и инактивированные. В промышленном свиноводстве все более широкое применение находят инактивированные вакцины, благодаря их существенным преимуществам перед живыми вакцинами. Прежде всего следует отметить их высокую безопасность и безвредность, возможность стандартизации дозированного введения специфического антигена, стабильность основных биологических свойств, возможность создания системного, напряженного и продолжительного иммунологического эффекта, возможность успешного применения в поливалентном или ассоциированном варианте [2, 4, 5]. Исходя из этого нами определена цель – конструирование инактивированной вакцины против пастереллеза и бордетеллеза.

Материалы и методы исследований. Важным звеном при разработке и производстве инактивированных вакцин являются процессы подбора концентрации антигена и его инактивации при сохранении их иммуногенных характеристик. Количество и качество антигена в препарате является важнейшим показателем в получении эффективных вакцин. В технологии изготовления убитых вакцин вслед за получением микробной биомассы наступает этап инактивации. Выбор инактиванта и режима инактивации является одним из определяющих факторов, влияющих на протективные свойства готовой вакцины. В современных технологиях изготовления вакцин широко применяют следующие инактиванты: формалин, фенол, этанол, этиленмин и его производные [2].

Поэтому целью нашей работы явилось определение концентрации и изучение режимов инактивации штаммов *Pasteurella multocida* серовариант А, *Pasteurella multocida* серовариант D и *Bordetella bronchiseptica*.

В первой серии опытов была подобрана оптимальная концентрация антигена в вакцине. Для проведения опыта были наработаны три инактивированных антигена *Pasteurella multocida* серовариант А, *Pasteurella multocida* серовариант D и *Bordetella bronchiseptica*. Концентрация антигенов доводилась до 2 млрд., 5 млрд. и 10 млрд. микробных клеток в 1 мл по стандарту мутности. Стандартизированные антигены смешивались в соотношении 1:1:1. В приготовленные таким образом антигены вводился гель гидроокиси алюминия до конечной концентрации 30% и перемешивался. Полученными антигенами иммунизировали кроликов внутримышечно в объеме 2 мл. Через неделю после первой иммунизации проводили повторную иммунизацию в такой же дозе. На каждую концентрацию антигена использовали 3 кролика массой 2-2,5 кг. Для контроля эффективности иммунизации у кроликов отбирали сыворотку крови до иммунизации, через 14, 21, 30, 60 дней после последней иммунизации. В сыворотке крови проводили определение титра антител к *Pasteurella multocida* серовариант А, *Pasteurella multocida* серовариант D и *Bordetella bronchiseptica*.

При определении условий инактивирования полученной биомассы бактерий исследовался инактивант формалин.

На первом этапе исследования был проведен опыт по определению концентрации формалина, обеспечивающего гибель пастерелл и бордетелл. Для проведения опыта использовалась взвесь бактериальных клеток *Pasteurella multocida* серовариант А, *Pasteurella multocida* серовариант D и *Bordetella bronchiseptica* в концентрации 10 млрд. микробных клеток /мл по стандарту мутности в которую вносили формалин до конечной концентрации 0,05%; 0,1%; 0,3%; 0,4%; 0,5%; 1% и 2%. Культуру с формалином ставили в термостат при температуре 37°C. Через 1, 3, 6, 12, 24 и 48 часов экспозиции отбирались пробы для контроля полноты инактивации. Пробы высевались на чашки Петри с кровяным МПА в дозе 0,1 мл. Посевы инкубировались в термостате 48 часов при 37°C. После инкубации оценивали наличие или отсутствие роста на чашках с питательной средой.

Поскольку при получении инактивированных вакцин важна не только полнота инактивации, но и отсутствие реактогенности, то была проведена вторая серия опыта, в которой оценивалась степень реактогенности инактивированного антигена. При проведении опыта использовалась смесь суточных культур штаммов *Pasteurella multocida* серовариант А, *Pasteurella multocida* серовариант D и *Bordetella bronchiseptica* в соотношении 1:1:1. Для чего культуры высевались на сывороточный МПА, инкубировались в термостате при температуре 37°C в течение 24 часов. Выросшая бактериальная масса смывалась изотоническим раствором натрия хлорида и доводилась до концентрации 5 млрд.м.к./см³ по стандарту мутности. Стандартизированные смывы смешивались и добавлялся формалин до конечной концентрации 0,4%. Антиген с формалином ставился в термостат на инактивацию при 37°C. Пробы антигена отбирались на 3, 7, 14, 21 и 30 сутки. Отобранные пробы антигена вводили белым мышам живой массой 16-18 г подкожно в дозе 0,4 мл. На каждую пробу использовалось 10 мышей. В течение 10 суток за мышами вели наблюдение. Учитывали общее состояние, поедаемость корма, водопотребление, гибель животных. Опыт проводится в двух повторностях. Для каждой повторности опыта использовали новый антиген.

Результаты исследований. Результаты опыта по подбору оптимальной концентрации антигена приведены в таблице 15.

Таблица 15

Подбор оптимальной концентрации антигена

Время взятия крови	Штамм	Концентрация антигена/№ кролика									
		2 млрд.			5 млрд.			10 млрд.			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	
Титр антител											
До вакцинации	<i>Past. mult. cep. A</i>	0	0	0	1:2	1:2	0	0	0	0	0
	<i>Past. mult. cep. D</i>	0	1:2	0	1:2	0	0	1:2	0	1:2	
	<i>Bord. bronchisept.</i>	0	1:2	1:2	0	0	0	0	0	0	
Через 14 дней	<i>Past. mult. cep. A</i>	1:16	1:32	1:32	1:16	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	
	<i>Past. mult. cep. D</i>	1:16	1:16	1:32	1:16	1:16	1:16	1:16	1:32	1:32	
	<i>Bord. bronchisept.</i>	1:16	1:32	1:32	1:16	1:32	1:32	1:32	1:32	1:32	
Через 21 день	<i>Past. mult. cep. A</i>	1:128	1:128	1:256	1:512	1:512	1:512	1:512	1:512	1:512	
	<i>Past. mult. cep. D</i>	1:128	1:128	1:128	1:1024	1:512	1:512	1:512	1:512	1:512	
	<i>Bord. bronchisept.</i>	1:128	1:256	1:256	1:1024	1:1024	1:1024	1:1024	1:1024	1:512	
Через 30 дней	<i>Past. mult. cep. A</i>	1:128	1:128	1:128	1:512	1:1024	1:1024	1:512	1:512	1:512	
	<i>Past. mult. cep. D</i>	1:256	1:128	1:64	1:1024	1:1024	1:1024	1:1024	1:1024	1:512	
	<i>Bord. bronchisept.</i>	1:128	1:128	1:256	1:1024	1:1024	1:1024	1:1024	1:1024	1:512	
Через 60 дней	<i>Past. mult. cep. A</i>	1:64	1:64	1:32	1:1024	1:1024	1:1024	1:1024	1:1024	1:512	
	<i>Past. mult. cep. D</i>	1:32	1:32	1:32	1:1024	1:1024	1:512	1:1024	1:1024	1:512	
	<i>Bord. bronchisept.</i>	1:32	1:32	1:32	1:1024	1:1024	1:1024	1:1024	1:1024	1:512	

Как видно из приведенной таблицы, при концентрации антигена 2 млрд. микробных клеток/мл, уже через 14 дней после иммунизации в сыворотке крови животных наблюдался вакцинный титр антител, который нарастал и на 21 день после иммунизации достиг максимума (1:256). Через 30 дней после введения антигена титр антител оставался на прежнем уровне. К 60 дню он начал снижаться, что свидетельствует о том, что данной концентрации антигена недостаточно для формирования длительного иммунитета. При концентрации антигена 5 и 10 млрд. микробных клеток/мл на 14 день после иммунизации титр антител составлял 1:16 – 1:32. В последующем он увеличивался и достиг к 30 дню 1:512 – 1:1024. На 60 день после иммунизации снижения титра антител не произошло, он оставался на прежнем уровне. Таким образом данная концентрация антигена способствует формированию длительного иммунитета. Результаты опыта по определению концентрации формалина, обеспечивающего гибель пастерелл и бордетелл, приведены в таблицах 16,17,18.

Таблица 16

**Определение времени инаktivации бактерий формалином культуры
Pasteurella multocida серовариант А**

Концентрация формалина, %	Время инаktivации, часов					
	1	3	6	12	24	48
0,05	+	+	+	+	+	-
0,1	+	+	+	+	-	-
0,3	+	+	+	+	-	-
0,4	+	+	+	-	-	-
0,5	+	+	+	-	-	-
1	+	+	-	-	-	-
2	+	-	-	-	-	-

Примечание: «+» - наличие роста, «-» - отсутствие роста.

Таблица 17

**Определение времени инаktivации бактерий формалином культуры
Pasteurella multocida серовариант D**

Концентрация формалина, %	Время инаktivации, часов					
	1	3	6	12	24	48
0,05	+	+	+	+	+	-
0,1	+	+	+	+	-	-
0,3	+	+	+	+	-	-
0,4	+	+	+	-	-	-
0,5	+	+	+	-	-	-
1	+	+	-	-	-	-
2	+	-	-	-	-	-

Примечание: «+» - наличие роста, «-» - отсутствие роста.

Таблица 18

**Определение времени инаktivации бактерий формалином
культуры Bordetella bronchiseptica**

Концентрация формалина, %	Время инаktivации, часов					
	1	3	6	12	24	48
0,05	+	+	+	+	+	+
0,1	+	+	+	+	+	-
0,3	+	+	+	+	+	-
0,4	+	+	+	+	-	-
0,5	+	+	+	+	-	-
1	+	+	-	-	-	-
2	+	+	-	-	-	-

Примечание: «+» - наличие роста, «-» - отсутствие роста.

Анализируя приведенные таблицы видим, что время инаktivации бактерий, входящих в состав разрабатываемой вакцины сокращается с увеличением концентрации формалина и составляет при концентрации 0,05% - 48 часов и более, при 0,1% и 0,3% - 24-48 часов, при 0,4% - 12-24 часов, при 1% - 6 часов, при 2% - 3-6 часов. Поскольку в препарат рекомендуется введение формалина в минимальной концентрации, то была выбрана концентрация 0,4%.

Результаты по определению степени реактогенности инаktivированного антигена в зависимости от времени инаktivации приведены в таблице 19.

Таблица 19

**Реактогенность антигена в зависимости
от времени инаktivации**

Мыши	Время инаktivации антигена, суток										
	3		7		14		21		30		
	1 опыт	2 опыт	1 опыт	2 опыт	1 опыт	2 опыт	1 опыт	2 опыт	1 опыт	2 опыт	
Пало/выжило	5/5	6/4	2/8	2/8	0/10	1/9	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10
Общее состояние	угнетение	угнетение	вялость	вялость	удовлетвор.	удовлетвор.	хорошее	хорошее	хорошее	хорошее	хорошее

Как видно из приведенной таблицы, при трехсуточной инаktivации антигена, он является довольно токсичным для белых мышей (гибель животных в группе более 50%, выжившие мыши угнетенные). При инаktivации в течение 7 суток также наблюдается гибель белых мышей (20%), у выживших мышей регистрировалась вялость, снижение аппетита. При инаktivации антигена в течение 14 суток в одном опыте реактогенность антигена не была выявлена, но при повторном опыте наблюдалась гибель одной

мыши, состояние животных удовлетворительное. При инактивации антигена в течение 21-30 дней, он являлся безвредным для белых мышей, общее состояние животных было удовлетворительным.

Заключение. В результате проведенной нами работы установили, что концентрация антигена 5 млрд. микробных клеток/мл обеспечивает формирование длительного иммунитета. Для изготовления вакцины оптимальной схемой инактивации антигена является внесение в него 0,4% формалина и инактивация при 37°C в течение 21 дня.

Литература. 1. Абовян, А.В. Изучение инфекционного атрофического ринита в Армении: Автореф. дис. ... канд. вет. наук: 16.00.03 / А.В. Абовян. - Ереван, 1965 - 16 с. 2. Медведев, А.П. Основы получения противобактериальных вакцин и сывороток / А.П. Медведев, А.А. Вербицкий. - Витебск: ВГАВМ, 2010.-200с. 3. Пейсак, З. Болезни свиней / Зигмунт Пейсак; пер. с польского Д.В. Потапчука. - Брест: ОАО «Брестская типография», 2008. - 424с. 4. 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. 5. Справочник по применению вакцин, зарегистрированных в Республике Беларусь, против инфекционных болезней крупного рогатого скота, свиней, мелкого рогатого скота, лошадей, плотоядных и животных разных видов / сост. В.В. Максимович [и др.]. - Минск : Техноперспектива, 2006. - 166 с. 6. Bauwems, J.E. *Bordetella bronchiseptica pneumonia and bacteremia following bone marrow transplantation* / J.E. Bauwems, D.H. Spach D.H., T.W. Schacker // *Journal clin. Microbiol.* - 1992. - Vol.30. - № 9. - P. 2474-2475. 7. Dugal, F. *Adherence of Bordetella bronchiseptica 276 to uorcine trachea maintained in organ culture* / F. Dugal, C. Girard, M. Jacques // *Applied and Environmental Microbiology.* - 1990. - Vol.56. - № 6. - P.1523-1529. 8. Magyar, L. *The role of a Bordetella bronchiseptica cytotoxin in the pathogenesis of turbinate atrophy in pigs* / L. Magyar, N.Chanter, J.M. Rutter // *Acta Microbiologica Hungarica.* - 1988. - Vol. 35. - № 2. - P. 178.

Статья передана в печать 03.09.2012 г.

УДК:619:616.98

ПРОБЛЕМА ПРИЖИЗНЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*Власенко В.В., **Лысенко А.П., ***Брохтмейер Л., *Березовский И.В., *Власенко И.Г., *Войцицкая О.М.,
****Притыченко А.Н., *****Кузнецов Н.А.

*Винницкий государственный аграрный университет, г. Винница, Украина,

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

***N.Y. Institute of Medical Research in Bayside, New York, USA,

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

*****Гродненский государственный аграрный университет, г. Гродно, Республика Беларусь

В результате проведенного мониторинга туберкулинодиагностических исследований установлено, что бактериологически диагноз на туберкулез был подтвержден всего лишь у 1,7 % позитивно реагирующих животных. Результаты исследований указывают на то, что специфичность и чувствительность аллергической пробы очень низкая. При этом рутинные методы диагностики не позволяют своевременно обнаружить возбудителя в продуктах животноводства. Предложен метод прижизненной диагностики туберкулеза у животных с использованием крови, стимулятора роста и питательных сред ВКГ и «Микофаст». Поэтому применение прижизненного посева крови у коров представляет интерес как альтернативный метод диагностики.

The monitoring studies for the diagnosis of tuberculosis is established that the bacteriological diagnosis of tuberculosis was confirmed by only 1,7 % responding positively to animals. Research results indicate that the specificity and sensitivity of the allergy test is very low. In this case, the routine diagnostic methods do not allow early detection of the pathogen in livestock products. A method of in vivo diagnosis of tuberculosis in animals with blood, growth factors and growth media and VCG and Mikofast. Therefore the use of in vivo blood culture in cows is of interest as an alternative method of diagnosis.

Введение. Для прижизненной диагностики туберкулеза в ветеринарной медицине применяется метод аллергической пробы. Этот метод получил название туберкулинодиагностики. История изготовления аллергена и использования туберкулинодиагностики тесно связана с открытием Р. Кохом в 1882 году возбудителя туберкулеза. Через 8 лет после его открытия Кох предложил в качестве лечебного препарата туберкулин. Надежды автора на высокую эффективность туберкулина не оправдались, но этот препарат в течение многих лет используется с диагностической целью [1, 2, 3].

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 [4, 5, 6]. 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 [7].

Российские ученые [8] в 1997 году изучали методы выявления возбудителя туберкулеза в животноводческом сырье. Перед убоем на мясо животных подвергали туберкулинодиагностике, а после убоя исследования проводили бактериологическим методом с использованием различных питательных сред. По результатам исследований у 95,85 % животных, у которых была положительная реакция на

туберкулин, микобактерий не было выделено [8].

В Алтайском крае Луницин В.Г. и другие [9] изучали биоматериал, доставленный с ферм крупного рогатого скота. Как отмечают авторы, у крупного рогатого скота, который реагировал на туберкулин, диагноз не подтвердился. По сообщениям некоторых ученых [9, 10, 11, 12], при проникновении в организм атипичных микобактерий и некоторых других микроорганизмов возможна положительная реакция на туберкулин. Необходимость совершенствования аллергической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота отмечают ряд авторов [13, 14, 15, 16].

Одним из главных мероприятий по оздоровлению неблагополучных по туберкулезу хозяйств является своевременное выявление и изъятие из группы больных животных. Установление диагноза иногда бывает сложным, особенно в благополучных по туберкулезу группах крупного рогатого скота. Диагноз считается установленным, если у реагирующих (или не реагирующих) на туберкулин животных при вскрытии найдены присущие туберкулезу поражения, в случае выделения из патологического материала *M. bovis* или *M. tuberculosis*, а также при положительных результатах биологической пробы. Самое большое беспокойство вызывает несовершенство прижизненных методов диагностики туберкулеза у животных, которые убиты, при этом наносится большой урон животноводству. Но без применения методов выделения измененных форм возбудителя туберкулеза, особенно прижизненного, невозможно добиться реального оздоровления стад и искоренения латентной туберкулезной инфекции.

В целом, с учетом неблагоприятных тенденций эпидемиологической и эпизоотической ситуации в мире, повышение эффективности бактериологической диагностики за счет выявления измененных форм МБТ – актуальная задача, решение которой может помочь в глобальной борьбе с туберкулезной инфекцией.

На наш взгляд, одна из причин недооценки диагностической значимости выявления измененных форм МБТ связана с трудностями их выделения и идентификации. Считается, что питательные среды для выделения маркеров L-форм туберкулеза (CWDF МБТ) должны удовлетворять их специфические потребности в питательных веществах [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 (сахарозы) [19, 20]. В Советском Союзе для выделения L-форм микобактерий туберкулеза использовалась полужидкая среда Школьниковой в модификации И.Р. Дорожковой [21].

На наш взгляд, для повышения эффективности бактериологической диагностики туберкулеза, представляет интерес прием предварительной стимуляции ростовых факторов микобактерий, находящихся в исследуемом материале. Известно, что *M. tuberculosis* и *M. bovis* имеют гены, продуцирующие факторы роста, активные в пиколярных (в отдельных случаях субпиколярных) концентрациях, при росте на минимальных средах или при посеве микроорганизмов в очень низкой концентрации, стимулирующие размножение дормантных клеток [22].

Еще в 1931 г. F. Miller показал, что *M. tuberculosis*, *M. bovis* могут становиться НКУ и быстро расти при добавлении в посевной материал стерильного экстракта хромогенного штамма H-37 *M. tuberculosis* [23]. С конца 90-х годов нами были проведены исследования по разработке методов стимуляции роста МБТ и питательных сред, позволяющих за 2-5 дней выделять их из любого патологического материала [24]. Были разработаны стимуляторы роста и специальные питательные среды [25]. Оказалось, что после 24-48 ч. инкубации в стимуляторах роста микобактерии туберкулеза, находящиеся в патологическом материале, приобретают способность к быстрому росту (2-5 суток), но преимущественно в CWDF. Последнее определило одну из возникших проблем – идентификацию изолятов. Haudurov D. and Tanner A. при туберкулезе обнаружили кокковидные формы, собранные в тетрады, или в скопления [26]. Плеоморфные крупные глобулярные CWD формы микобактерий туберкулеза (4-5 микрон) с включениями кислотоустойчивых гранул находили *in vitro* [27].

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 [28].

По данным, приведенным в обзоре Veran V. et al (2006), CWDF (L-формы) МБТ по их способности реверсировать в классическую форму делят на стабильные (не реверсирующие спонтанно) и нестабильные (способные спонтанно реверсировать) [29]. Кроме того, согласно степени изменений их клеточной стенки, выделяют протопласты и сферопласты.

Целью нашей работы было изучить результаты мониторинга аллергических исследований и выделения возбудителя туберкулеза от положительно реагирующих на туберкулин животных на территории Украины за период с 2000 по 2010 годы.

Материал и методы исследований. Материалом для анализа качественных показателей туберкулинодиагностических исследований служили статистические данные Министерства аграрной политики Украины.

Исследование крови коров. Из яремной вены с соблюдением стерильности брали кровь, которую смешивали 1:1 со стимуляторами роста ВКГ и Микофаст и после 24 ч инкубации при 37 °С высевали на среды ВКГ и Микофаст.

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).

Стимуляторы роста – стерильные, прозрачные жидкости. Питательные среды представляли собой мелкодисперсный порошок, который суспензировали в деионизованной воде, расплавляли, фильтровали, автоклавировали 15 мин при 121 °С, фасовали в стерильные пластиковые чашки Петри или стеклянные бактериологические пробирки и использовали после 48-часового контроля на стерильность. Готовые

питательные среды представляли собой прозрачный желтоватый гель на основе агара. Срок их использования не превышал 14 дней.

Результаты исследований. Результаты анализа проведенного мониторинга по выявленным туберкулинопозитивным животным по годам в Украине приведены в таблице 20.

Таблица 20

Частота выявления положительно реагирующих на туберкулин животных в Украине за 2002-2010 гг.

№ п/п	Период исследования	Наличие КРС на начало года (тыс. гол.)	Положительно реагирующих (гол.)	Убито реагирующего скота (гол.)	Выделено культур			% Подтверждение диагноза %
					<i>M.tuberculosis</i>	<i>M.bovis</i>	<i>M.avium</i>	
1	01.01.2002	9421,1	11 367	12 325	12	210	26	2,0
2	01.01.2003	9108,4	7 076	8 746	0	131	33	1,9
3	01.01.2004	7712,1	6 043	7 322	1	53	5	0,8
4	01.01.2005	6902,9	6 889	4 663	0	126	0	2,7
5	01.01.2006	6514,1	7 388	5 853	29	66	1	1,6
6	01.01.2007	6175,4	6 342	3 638	0	97	0	2,6
7	01.01.2008	5079,0	2718	2 736	0	78	0	2,8
8	01.01.2009	4917,6	848	1 646	0	40	0	2,4
9	01.01.2010	4823,7	315	1 337	0	12	1	0,9

Как видно из таблицы 1, всего было убито 12325 гол. крупного рогатого скота, который реагировал на туберкулин в 2001 году, а бактериологическим методом выделено 284 культуры возбудителя туберкулеза, т. е. бактериологическим методом диагноз подтвержден в 2 % случаев от реагирующего скота, что отрицательно сказалось на воспроизводстве стада. Следует отметить, что начиная с 2003 года поголовье крупного рогатого скота уменьшалось и составило на начало 2003 г. 9108,4 тыс. голов, в течение 2002 года было убито реагирующего на туберкулин скота 8746 голов, но бактериологическим методом выявлено всего 164 культуры возбудителя туберкулеза, из которых отнесены к *M.bovis* – 131, к *M.avium* – 33, т. е. бактериологическим методом диагноз подтвержден у 1,9 % убитых животных, реагирующих положительно на туберкулин. Анализируя результаты таблицы 1, следует отметить, что подтверждение диагноза на туберкулез бактериологическим методом по годам колебалось в пределах от 0,85 до 2,8 % от числа убитых положительно реагирующих на туберкулин животных. Иная картина наблюдалась в 2008 году, когда при уменьшении поголовья крупного рогатого скота до 4917,6 тыс. голов убито реагирующего на туберкулин 1646 гол. При этом выделены бактериологическим методом только 40 культур *M.bovis*. В 2009 году сохранялась аналогичная тенденция – было убито реагирующего скота 1337 голов, а выделено бактериологическим методом только 12 культур бычьего вида, что составляет 0,9 %.

Результаты исследований показали, что всего убито реагирующего скота 48266 голов, а подтвержден диагноз бактериологическим методом у 1,7 %, то есть 47445 голов убили необоснованно и тем самым недополучили продукции животноводства и потеряли воспроизводство поголовья крупного рогатого скота, что приводит к значительному урону продовольственной безопасности страны. При этом происходил спад производства основных видов продовольствия, особенно животного происхождения, и в настоящее время объемы производства продукции сельского хозяйства составляют меньше дореформенного уровня. Производство наиболее ценных продуктов питания уменьшилось: мяса – с 1985,4 (1990 г.) до 453,5 тыс. тонн (2009 г.), молока – с 17274,3 (1990 г.) до 11348,8 тыс. тонн. (2009 г.). Эффективность производства животноводческой продукции в 2009 году, по объемам которой не обеспечиваются рациональные нормы питания населения Украины, показано в таблице 21.

Таблица 21

Эффективность производства сельскохозяйственной продукции в 2009 году, по объемам которой не обеспечиваются рациональные нормы питания населения Украины

Виды продукции по которой не обеспечиваются рациональные нормы питания	Рациональные нормы питания на одного человека в год, кг	Фактическое потребление на одного человека в год, кг	Обеспечение, %
Мясо – всего	83	49,7	59,9
В том числе:			
КРС	X	9,6	X
Свиней	X	16,1	X
Птицы	X	23,0	X
овец и коз	X	0,5	X
Молоко	380	212,4	55,9
Яйца, шт.	290	272	93,8

Концепция обеспечения продовольственной безопасности Украины (мясом – на 59,9 %, молоком – на 55,9 %) в нынешних условиях довольно сложная. Противоречивый процесс требует многовекторных поисков безопасности продуктов питания. Существующие рутинные методы не позволяют своевременно определить биобезопасность продуктов питания животного происхождения. В результате проведенного

анализа установлено, что в последние годы в неблагополучных по туберкулезу хозяйствах наблюдается выделение реагирующих на туберкулин животных, а при ветеринарно-санитарной экспертизе туш и органов характерных для туберкулеза изменений не наблюдается. Результаты комплексной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота в областях Украины на 01.10.2008 г. приведены в таблице 22.

Таблица 22

Ветеринарно-санитарная экспертиза туш положительно реагирующих на туберкулин животных, убитых с диагностической целью в областях Украины, на 01.10.2008 г.

Область	Исследовано аллергически (голов)	Выявлено реагирующих на туберкулин		количество голов	Обнаружено с патолог. изменениями, голов
		всего голов	в т.ч. коров		
1	2	3	4	5	6
АР Крым	96437	0	0	0	-
Винницкая	190143	655	407	174	-
Волынская	266944	15	15	5	-
Днепропетровская	82029	24	18	8	-
Донецкая	108974	48	46	62	-
Житомирская	178877	152	147	141	12
Закарпатская	154043	0	0	0	-
Запорожская	136824	7	2	7	-
Ивано-Франковская	26385	0	0	0	-
Киевская	174506	153	121	138	-
1	2	3	4	5	6
Кировоградская	65862	16	8	14	-
Луганская	124334	88	85	83	-
Львовская	36358	0	0	0	-
Николаевская	47279	7	7	2	-
Одесская	119237	120	87	120	-
Полтавская	341692	28	23	16	-
Ровненская	67688	40	34	40	-
Сумская	166398	204	136	51	-
Тернопольская	55332	37	29	34	-
Харьковская	246130	152	137	98	-
Херсонская	151006	72	68	42	-
Хмельницкая	239100	103	88	103	-
Черкасская	206870	604	514	493	22
Черновицкая	24070	5	4	5	-
Черниговская	257930	132	116	130	-
Всего:	3564448	2662	2092	1766	34

Как видно из таблицы 3, было исследовано аллергической пробой 3564448 гол., а выявлено реагирующих 2662, в том числе 2092 коров. Животные, которые реагировали положительно на туберкулин, были отправлены на диагностический убой в количестве 1766 гол. Из них только у 34 (1,9 %) обнаружены патологоанатомические изменения.

Следует отметить, что при диагностическом убое 141 головы в Житомирской области были обнаружены патологоанатомические изменения лишь в 1 случае, тогда как в Черкасской области из 493 – у 22 голов.

Известно, что бактериологическое исследование дает положительный результат, когда в 1 см³ суспензии исследуемого материала находится не менее 50 тысяч клеток микобактерий.

Исходя из вышеизложенного, мы приступили к анализу бактериологических исследований туш и органов животных, положительно реагирующих на туберкулин. Результаты исследований приведены в таблице 23.

Таблица 23

Бактериологическое исследование туш животных, которые положительно реагировали на туберкулин

Область	Исследовано аллергически, голов	Выделено реагирующих		Биопроба	Результаты бактериологических исследований		
		всего голов	в т.ч. коров		Количество проб посева, голов	выделено культур	
						<i>M. bovis</i>	Атипичных культур
АР Крым	96437	0	0	0	0	-	-
Винницкая	190143	655	407	174	174	-	-
Волынская	266944	15	15	5	5	-	-
Днепропетровская	82029	24	18	23	8	-	-
Донецкая	108974	48	46	62	62	-	-

Житомирская	178877	152	147	74	141	1	2
Закарпатская	154043	0	0	0	0	-	-
Запорожская	136824	7	2	7	7	-	1
Ивано-Франковская	26385	0	0	0	0	-	-
Киевская	174506	153	121	246	138	-	12
Кировоградская	65862	16	8	13	14	-	-
Луганская	124334	88	85	116	83	-	4
Львовская	36358	0	0	0	0	-	-
Николаевская	47279	7	7	2	2	-	-
Одесская	119237	120	87	133	120	-	-
Полтавская	341692	28	23	16	16	-	-
Ровненская	67688	40	34	40	40	-	1
Сумская	166398	204	136	161	51	5	-
Тернопольская	55332	37	29	10	34	-	-
Харьковская	246130	152	137	88	98	-	3
Херсонская	151006	72	68	48	42	-	1
Хмельницкая	239100	103	88	59	103	-	-
Черкасская	206870	604	514	493	493	-	3
Черновицкая	24070	5	4	4	5	-	-
Черниговская	257930	132	116	129	130	-	1
Всего:	3564448	2662	2092	1903	1766	6	28

Как видно из таблицы 4, в Украине на 1.10.2008 г. было проведено 1903 экспертизы бактериологическим методом, путем проведения биопробы, и 1766 проб посева от животных, которые положительно реагировали на туберкулин, а выделили культуру возбудителя туберкулеза лишь в 6 пробах.

Конечно, затрачены очень большие материальные и человеческие ресурсы, а результат оказался мизерным. Довольно интересно то, что в Черкасской области при контрольном диагностическом убое (4393 головы) в результате ветеринарно-санитарной экспертизы выявлено 22 животных с патологическими изменениями, характерными для туберкулеза, но при бактериологических исследованиях культуры возбудителя туберкулеза не были выделены. При сравнении выявления патологических изменений в тушах и органах животных, убитых с диагностической целью и бактериологически исследованных, совпадения диагноза не обнаружено. Только в Житомирской области, из 141 диагностически убитого животного патологические изменения обнаружены у 12 голов, причем только в одном случае выделен возбудитель туберкулеза бактериологическим методом.

Есть мнение ученых, что атипичные микобактерии, если они находятся в организме животных, могут вызвать сенсбилизацию организма к туберкулину.

Как показали исследования (анализ), из 1766 бактериологических экспертиз материала от животных, которые положительно реагировали на туберкулин, выделено всего 6 культур возбудителя туберкулеза и за 9 месяцев 2008 г. выделено положительно реагирующих на туберкулин 2662 животных (0,2 %) (Отчетные материалы гос. комитета вет. медицины). Такое количество положительно реагирующих на туберкулин животных трудно объяснить лишь влиянием атипичных микобактерий.

Можно предположить, что существующие рутинные методы исследований для выявления возбудителя туберкулеза в экологически сложных условиях Украины являются малопригодными для установления биобезопасности пищевого сырья животного происхождения. Существующие современные технологии за рубежом сложные и дорогостоящие, а потому малодоступны для специалистов Украины. Поэтому разработка современных методов детекции возбудителя туберкулеза в Украине является актуальной проблемой.

Нами предложен метод прижизненной диагностики туберкулеза у животных с использованием крови, стимулятора роста и питательной среды ВКГ, «Ганза» (патент Украины № 43467), стимулятора роста и питательной среды «Микофаст» («Doctor Vremia», Республика Беларусь). При посеве на среду ВКГ 85 проб крови туберкулин-положительных коров неблагополучного по туберкулезу стада «В» в 61 случае (71,6 %) на 2-4 сутки был получен рост восковиных колоний или тонкого «газона» (таблица 5). Изоляты были представлены крупными синими кокками, синими зернистыми палочками, похожими на классический возбудитель туберкулеза, прозрачными и темно-красными кокками. Иногда в мазках встречались рубиново-красные кокки и палочки.

При убое всех 85 коров у 16, на вскрытии были обнаружены видимые туберкулезные изменения. Оказалось, что пробы крови 12 таких животных (75 %) дали характерный рост на среде ВКГ и агглютинацию выросшей бактериальной массы антисывороткой *M. bovis*.

При исследовании 226 проб крови туберкулинотрицательных коров характерный рост на среде ВКГ обнаружен в 64 случаях (28,3 %). При убое всех 226 туберкулинотрицательных коров туберкулезные изменения были обнаружены у 7. Пробы крови этих животных на среде ВКГ в 5 случаях (71,4 %) дали характерный рост колоний и положительный результат РА.

Таблица 24

Результаты посева крови коров неблагополучного стада «Б» на среду ВКГ, РА и аутопсии

Группы животных	Исследовано проб крови	Рост на среде ВКГ	РА изолятов со среды ВКГ с антисывороткой <i>M.bovis</i>	Выявлен туберкулез при аутопсии
Туберкулинопозитивные коровы	85	61 (71,8%)	61 (71,8%)	16
Туберкулинонегативные коровы	226	64 (28,3%)	64 (28,3%)	7

Таким образом, чувствительность посева крови на среду ВКГ по неблагополучному стаду «В» составила: у туберкулинопозитивных коров – 71,6 %, у коров с туберкулезными изменениями – 71,4-75 %.

Выявление 28,3 % инфицированных особей среди 226 не реагирующих на туберкулин коров показало, что посев крови на среду ВКГ существенно дополняет аллергическую диагностику болезни.

Туберкулезная природа изолятов была подтверждена в биопробе на морских свинках, которым вводили культуры (по 1 мг бактериальной массы подкожно) из крови двух явно больных коров. Морские свинки пали через 19-20 суток от генерализованного туберкулеза. Вместе с тем после заражения изолятами от трех коров без туберкулезных изменений явного заболевания у морских свинок не отмечено (срок наблюдения – 3 месяца).

При посеве 178 проб крови коров, не реагирующих на туберкулин, из неблагополучного стада «Z» в 55,1 % случаев получен рост характерных колоний на среде ВКГ. Все изоляты из крови реагировали в РА с антисывороткой *M.bovis*.

В таблице 6 представлены результаты посева крови 12 коров неблагополучного стада «VI» на среду ВКГ, в том числе 5 коров, у которых на убое были обнаружены изменения, свойственные туберкулезу. Кровь всех животных (100 %), включая и туберкулинотрицательную корову, у которой были туберкулезные изменения, дала рост на среде ВКГ. Изоляты реагировали в РА с антисывороткой *M.bovis*, имели специфические участки ДНК, выявленные в ПЦР с праймерами MPB 70.

По нашему мнению, метод представляет особую ценность для ветеринарной медицины, где не делается различий между активной и латентной туберкулезной инфекцией и инфицированные коровы должны удаляться из стада. В существующей практике такие состояния выявляют с помощью туберкулиновой пробы. Однако ее чувствительность составляет в наших исследованиях 1,7 %, с другой стороны, актуальной остается проблема ложноположительных реакций [30]. Отсутствие явного заболевания, скорее всего, объясняется ежегодной двукратной туберкулинизацией и убоем реагирующих коров. Имунная система в таких условиях держит под контролем МБТ, трансформируя их в CWDF, поэтому инфекция протекает в скрытой форме. Если не применять методы выявления такого состояния, реальное оздоровление может продолжаться еще много лет.

Таблица 25

Посев крови коров неблагополучного стада «VI» на среду ВКГ и результаты идентификации изолятов в РА и ПЦР

Номер коровы	Утолщение кожной складки на ППД туберкулин (мм)	Рост крови на среде ВКГ	РА изолята с антисывороткой <i>M.bovis</i>	ПЦР MPB 70
4578Т*	3	+	+	+
600Т*	3	+	+	+
3868Т*	7	+	+	+
3885Т*	9	+	+	+
3805Т*	0	+	+	+
4523\4338	4	+	+	ни
3870	7	+	+	+
3831\3863	5	+	+	+
7426\4545	4	+	+	+
5712\3853	2	+	+	+
4072\4545	4	+	+	ни
4070\4076	6	+	+	+

Примечание: Т* – коровы, у которых на убое были обнаружены изменения, свойственные туберкулезу.

Поэтому применение прижизненного посева крови у коров представляет интерес как альтернативный метод диагностики. Авторами этой статьи разработаны новые методы выявления противотуберкулезных антител иммуноферментным методом, скрининговой диагностики «тест-фактор», что дает возможность в мазке крови инфицированного (больного) животного обнаружить стадию развития возбудителя туберкулеза с последующим выделением чистой культуры за 2-3 дня и определить чувствительность к лекарственным средствам, что даст возможность своевременно и эффективно провести диагностику и лечение больных и определить биобезопасность пищевых продуктов.

Заключение. Внутрикожная туберкулиновая проба – не достаточно информативный диагностический тест, так как ее чувствительность (совпадение с бактериологическими исследованиями) составляет в наших исследованиях 1,7 %. Кроме того, метод позволяет глубже взглянуть на проблему ложноположительных реакций в стадах, считающихся благополучными по туберкулезу. Существующие

рутинные методы исследований для выявления возбудителя туберкулеза в экологически сложных условиях Украины являются малоприспособными для установления биобезопасности пищевого сырья животного происхождения. Поэтому разработка прижизненных современных методов детекции возбудителя туберкулеза является актуальной проблемой. Проведенные исследования показали, что с помощью стимуляторов роста и питательных сред ВКГ и Микофаст достаточно просто и быстро можно выделить маркер туберкулезной инфекции. Установлено, что в стадах с туберкулезной инфекцией метод позволяет выделить маркеры туберкулеза (CWDF МБТ) из крови в 71,6-100 % случаев и дополнительно выявить 28,3-55,1 % инфицированных среди туберкулинотрицательных животных. Поэтому применение прижизненного посева крови у коров представляет интерес как альтернативный метод диагностики.

Литература: 1. Вишневский, П. П. Туберкулин (историческая справка, изготовление и применение в ветеринарной практике) / П. П. Вишневский // Биопрепараты для сельскохозяйственных животных. – М., 1935. – С. 299-327; 2. Ткаченко, О. А. Специфічність та активність туберкуліну при діагностиці туберкульозу великої рогатої худоби / О. А. Ткаченко, Л. С. Короленко // Ветеринарна медицина України. – 1998. – № 7. – С. 12-13; 3. Кассіч, Ю. Досягнення науки і практики в застосуванні методу алергічної діагностики туберкульозу великої рогатої худоби / Ю. Кассіч, П. Фукс // Ветеринарна медицина України. – 2001. – № 5. – С. 11-14; 4. Anon. The tuberculin test. *Vet. Rec.* – 1942. – Vol. 54. – P. 191-192; 5. Anon. A comparison between the double intradermal comparative test and the single intradermal comparative test // *Vet. Rec.* – 1947. – Vol. 59. – P. 95-100; 6. Dalling, T. Tuberculin and tuberculin testing / T. Dalling // *Vet. Rec.* – 1948. – Vol. 60. – P. 527-536; 7. Baiteriakova, T. I. Persistence of mycobacteria in cattle (In Russian) / T. I. Baiteriakova, I. N. Rubtsova, I. A. Makarov // *Problemy Tuberculeza i Bolezni Legkikh.* – 1982. – Bd. 11. – P. 59-60; 8. Ходун, Л. М. Оптимизация аллергической и лабораторной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота : автореф. дис. д-ра вет. наук / Л. М. Ходун. – Казань, 1997. – 31 с.; 9. Ткаченко, О. Проблема атипичних мікобактерій і зумовленої ними мікобактеріозної інфекції / О. Ткаченко // Ветеринарна медицина України. – 1999. – № 3. – С. 18; 10. Ткаченко, О. Шейдкоростучі *M. bovis* у проблемі туберкульозу / О. Ткаченко // Ветеринарна медицина України. – 2004. – № 7. – С. 14-17; 11. Лысенко, А. П. Антигенный состав и дифференциация штаммов *Mycobacterium bovis* от атипичных микобактерий по наличию специфических антигенов / А. П. Лысенко // Вопросы туберкулеза и бруцеллеза животных. – Новосибирск, 1997. – С. 50-58; 12. Мартма, О. В. Атипичные микобактерии и их диагностическое значение при туберкулезе крупного рогатого скота : автореф. дис. д-ра вет. наук : 16.00.03 «Микробиология» / О. В. Мартма. – М., 1991. – 46 с.; 13. Руманчик, И. И. Совершенствование дифференциальной аллергической диагностики туберкулеза у крупного рогатого скота / И. И. Руманчик // Материалы науч.-практ. конф. (23-24 окт. 1997 г.). – Минск, 1997. – С. 67-68; 14. Руманчик, И. И. Проведение плановых исследований крупного рогатого скота на туберкулез с одновременной дифференциацией туберкулиновых реакций / И. И. Руманчик // Труды БелНИИЭВ. – Минск, 1996. – Вып. 32. – С. 94-96; 15. Харитонов, М. В. Неспецифические реакции на туберкулин и факторы, обуславливающие их / М. В. Харитонов, Р. Г. Гамиров, С. А. Хамитова // *Вет. врач.* – 2002. – № 4(12). – С. 34-37; 16. ТУУ 24.4-00497087-697-2003. Алерген сухий очищений із атипичних мікобактерій (ААМ). – Затверджені Головою Державного департаменту ветеринарної медицини 29 липня 2003 року. – К., 2003. – 18 с.; 17. Cell wall deficient forms of mycobacteria: a review / V. Beran [et al.] // *Veterinari Medicina.* – 2006. – Vol. 51(7). – P. 365-389; 18. Chandrasekhar, S. Studies on cell-wall deficient non-acid fast variants of *Mycobacterium tuberculosis* / S. Chandrasekhar, S. Ratnam // *Tuber Lung Dis.* – 1992. – Vol. 73(5). – P. 273-279; 19. Sheroplactic phase of mycobacteria isolated from patients with Crohn's disease / S. J. Chiodini [et al.] // *J. of Clinical Microbiology.* – 1986. – Vol. 24. – P. 357-363; 20. Markesich, D. C. Progress in culture and subculture of shero-plasts and fastidious acid-fast bacilli isolated from intestinal tissues / D. C. Markesich, D. Y. Graham, H. H. Yoshimura // *J. of Clinical Microbiology.* – 1988. – Vol. 26. – P. 1600-1603; 21. Земскова, З. С. Латентные туберкулезные инфекции / Зю Сю Земскова, И. П. Дорожкова. – М. : Медицина, 1984. – 221 с.; 22. A family of autocrine growth factors in *Mycobacterium tuberculosis* / G. Mukamolova [et al.] // *Molecular Microbiology.* – 2002. – Vol. 46(3). – P. 623-635; 23. Miller, F. R. The induced development of non-acid forms of *Bacillus tuberculosis* and other mycobacteria / F. R. Miller // *J. Exp. Med.* – 1932. – P. 411-424; 24. Vlasenko, V. V. Tuberculosis in focus of problem contemporarity / V. V. Vlasenko. – Vinnica : Nauka, 1998. – 350 p.; 25. Patent Ukrainian № 43467; 26. Haudurov, D. Une Coloratoin differentielle des Mycobacteries; la colortion d'Alexander modification a cette coloration / D. Haudurov, A. Tanner // *Resultats Compt. Rend. Soc. Biol.* – 1948. – Vol. 24(142). – P. 1510; 27. Mattman, L. H. Cell wall deficient forms of mycobacteria / L. H. Mattman // *Ann. N.Y. Acad. Sc.* – 1970. – Vol. 174. – P. 852; 28. Власенко, І. Г. Детекція збудника туберкульозу в системі крові : монографія / І. Г. Власенко. – Вінниця : Едельвейс, 2009 – 300 с.; 29. Cell wall deficient forms of mycobacteria: a review / V. Beran [et al.] // *Veterinari Medicina.* – 2006. – Vol. 51(7). – P. 365-389; 30. Adams, L. G. In vivo and in vitro diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection / L. G. Adams // *Rev. sci. off int. Epiz.* – 2001. – Vol. 20(1). – P. 304-324.

Статья передана в печать 09.07.2012 г.

УДК 619:615.37:636.5:612.119

ДИНАМИКА ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРОБИОТИКА «ВЕТЛАКТОФЛОР»

Гласкович А.А., Капитонова Е.А., Притыченко А.В., Аль-Акаби А. Аамер
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

В настоящее время уже доказана эффективность применения пробиотиков в промышленном птицеводстве. При применении пробиотиков снижается процент заболеваний желудочно – кишечного тракта, увеличивается сохранность птицы, темпы прироста живой массы птицы.

Выпаивание исследуемого средства, разведенного как молоком, так и сывороткой, в технологическом цикле выращивания цыплят-бройлеров способствует нормализации основных биохимических показателей, таких как общий белок, мочевая кислота, кальций и фосфор, увеличению

глобулиновой фракции, повышению бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, более выраженный эффект проявляется при применении препарата, разведенного молоком.

Now efficiency of application probiotics in industrial poultry farming is already proved. At application probiotics the percent of diseases Stomach -an intestinal path decreases, safety of a bird, rates of a gain of live weight of a bird increases.

To give to drink the investigated means dissolved both milks, and whey in a work cycle of cultivation of chickens-broilers promotes normalisation of the basic biochemical indicators, such as the general fiber, uric acid, calcium and phosphorus, to increase globulinus to fraction, increase bactericidal and lizocimus to activity of whey of the blood, more expressed effect is shown at application of the preparation dissolved with milks.

Введение. Распространению кишечных инфекций, прежде всего сальмонеллеза, на птицефабриках способствует сложная экологическая обстановка, экономическая нестабильность хозяйств, несбалансированность питания (токсичность некоторых кормов и наличие в них нередко патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл). Происходящие при этом нарушения процессов пищеварения приносят значительный экономический ущерб от прямых потерь поголовья и снижения его продуктивности. Применение антибиотиков и других дезинфектантов в этих условиях малоэффективно и экологически небезвредно. Нередко отмечается подъем заболеваемости населения сальмонеллезом, связанный с продукцией птицеводства. Все вышеперечисленное требует дополнительного изучения эпидемического процесса сальмонеллеза среди животных и лиц, профессионально связанных с сельскохозяйственными животными и птицами, а также разработки экологически безвредных средств борьбы с источниками инфекции [1].

Успешная реализация возрастающих объемов птицеводческой продукции невозможна без обеспечения грамотного ветеринарного обслуживания и эпизоотического благополучия птицеводческих хозяйств, оценкой которого являются не только высокие показатели продуктивности и сохранности птицы, но и гарантированное качество и безопасность, высокая медико-биологическая ценность продукции птицеводства, обеспечивающие доверие покупателей.

Необходимость получения гипоаллергенной, экологически чистой продукции, свободной от вредных для человека компонентов, побуждает производителей продукции птицеводства использовать натуральные добавки, которые влияют на организм птицы на системном уровне. Их влияние затрагивает регуляторные системы, за счет чего активируется иммунитет, неспецифическая резистентность, адаптогенность и интенсивность роста. Широкомасштабная кампания по ограничению использования кормовых и терапевтических антибиотиков при выращивании животных и птицы послужила широкому применению пробиотиков [2].

В состав пробиотиков входят только микроорганизмы, безопасные для здоровья человека и животных. К ним относятся молочно-кислые бактерии, бифидобактерии, энтерококки, дрожжи-сахаромицеты и спорообразующие бактерии.

Пробиотики применяют для поддержания и восстановления нормальной микрофлоры кишечника; для стимуляции иммунитета и общей резистентности организма; повышения роста и продуктивности птицы. Пробиотики используют для профилактики и лечения болезней желудочно – кишечного тракта птиц, вызванных условно – патогенной микрофлорой. По эффективности они не уступают некоторым антибиотикам и химиотерапевтическим препаратам, при этом не оказывают губительного действия на нормальную микрофлору пищеварительного тракта, не загрязняют продукты птицеводства и окружающую среду, т. е. являются экологически чистыми.

Актуальность использования пробиотиков в рационах птицы является средством профилактики сальмонеллеза, колибактериоза, кампилобактериоза без применения антибиотиков. Гибель цыплят в возрасте 28-35 дней от колибактериоза стоит на первом месте среди причин гибели от бактериальных инфекций и составляет 73-76% в общей структуре падежа. Широкая циркуляция высоковирулентных штаммов энтеробактерий с множественной антибиотикорезистентностью представляет серьезную угрозу не только здоровью птицы, но и здоровью человека. Пробиотики, в отличие от антибиотиков, не вызывают привыкания со стороны условнопатогенных микроорганизмов.

Концентрация большого поголовья в условиях промышленного птицеводства, транспортировка, вакцинация птицы, смена рациона, колебания температуры зачастую приводят к стрессам. Стрессовое состояние вносит изменения в физиологические и метаболические процессы, а нормальный клеточный метаболизм зависит от поддержания постоянства внутренней среды клеток [2].

При микробиологическом исследовании кишечной микрофлоры у домашней птицы выявлена следующая особенность. В весенне–летний период у домашней птицы свободного выгула популяция молочнокислых бактерий достигает максимального уровня. Несмотря на контакт с почвой, гниющими растениями и червями, у домашней птицы свободного выгула отсутствуют эшерихии, плесневые грибы и протей. В осенне–зимний период уровень молочнокислых бактерий снижается, а в составе содержимого кишечника встречается дрожжевая микрофлора и стафилококки.

У птицы промышленного стада уровень молочнокислой флоры ниже, чем у домашней птицы. В популяции эшерихий присутствуют особи со сниженной ферментативной активностью, а также спорообразующие бактерии, стафилококки, протей, плесневые грибы и дрожжи.

Качественные и количественные различия в составе кишечного микробного фона у домашней и промышленной птицы обусловлены разными источниками поступления нормальной микрофлоры. У птицы промышленного стада основным источником микрофлоры, заселяющей кишечник, является микробный фон птицефабрики и корма, обсемененные эшерихиями, сальмонеллами, спорообразующими бактериями, плесневыми грибами. На фоне высокой обсемененности кормов и внешней среды условно – патогенными микроорганизмами происходит опережающее заселение кишечника цыплят энтеробактериями и

замедление процесса колонизации стенок кишечника нормальной микрофлорой – молочнокислыми бактериями, бифидобактериями, пропионовыми бактериями и энтерококками.

Общие требования к технологии биологического сельского хозяйства содержатся в документах Международной федерации движений за органическое сельское хозяйство, которая была образована в 1972 г. Сегодня в нее входит более 750 организаций из 100 стран. Законодательной базой управления экологическим сельским хозяйством в странах ЕС служат - постановления об экологическом животноводстве, постановление об экологическом земледелии и соответствующих знаках отличия продуктов питания. В законодательном порядке установлено, что продукты экологического сельского хозяйства в ЕС отличаются контролем производства, а не тестированием остаточных количеств декларируемых веществ. Решением ЕС полностью прекращено применение промоторных антибиотиков в качестве добавок с 01.01. 2006 года [3].

Основными представителями кишечной микрофлоры являются следующие группы бактерий:

✓ Бифидобактерии. Обитают в пристеночной слизи, просвете толстого кишечника у молодняка и взрослых животных и птиц.

✓ Молочнокислые энтерококки и лактобактерии заселяют различные отделы желудочно-кишечного тракта – ротовую полость, зоб, желудок, тонкий кишечник, наивысшая концентрация достигается в толстом кишечнике.

✓ Эшерихии с выраженной ферментативной активностью, отсутствием факторов вирулентности обитают в определенной экологической нише – толстом кишечнике и дистальных отделах тонкого кишечника.

Широкий ассортимент пробиотиков (Бифидум СХЖ, Зоонорм, Алифт – П, Лактицид, Биокорм Пионер, Биоплюс – 2Б, Бифидумбактерин сухой, Бифидумбактерин жидкий, Бифинорм, Бифитрилак, Интестевит, Стрептобифидфорте, Лактоамиловарин, лактобифадол, Савит, Споровит, Целлобактерин, КлоСТАТ, Диалакт, Биофлор и другие) позволяет каждому птицеводческому хозяйству выбрать свой препарат, отвечающий как индивидуальным особенностям технологии выращивания птицы, так и эпизоотической ситуации. Качественные пробиотики – реальная возможность увеличения продуктивности, повышения качества и безопасности птицеводческой продукции, рентабельности производства [4-8].

Материалы и методы исследований. Целью нашей работы явилось изучение сравнительной эффективности применения пробиотика «Ветлактофлор» на сыворотке и на молоке, при выращивании цыплят-бройлеров. Перед нами были поставлены следующие задачи: изучить воздействие препаратов «Ветлактофлор» (на молоке и на сыворотке) на естественную резистентность организма цыплят-бройлеров.

«Ветлактофлор» (Vetlactoflorum) - жидкий препарат пробиотических живых ацидофильных бактерий штамм *Lactobacillus EP 317/402* «нарине», содержащий в 1 см³ не менее 10⁸ колониеобразующих единиц лактобактерий. По внешнему виду препарат представляет собой жидкость льяного цвета («Ветлактофлор-С» на сыворотке) или молочного цвета («Ветлактофлор-М» на молоке). Обладает кисловатым вкусом и молочным запахом. При его хранении допускается образование осадка, разбивающегося при встряхивании.

Пробиотические молочнокислые бактерии, являясь антагонистами патогенных и условно-патогенных бактерий, ингибируют рост, размножение и колонизацию патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, создают оптимальные условия для развития облигатной микрофлоры, нормализуют состав микрофлоры пищеварительного тракта и половых путей самок, положительно влияют на физиологические функции и биохимические реакции организма животного (птицы).

Лактобактерии, содержащиеся в препарате «Ветлактофор», усиливают иммунитет, увеличивают синтез защитных белков и формируют иммунологическую сопротивляемость организма, усиливают всасывание в кишечнике солей железа, кальция, инактивируют нитраты. Кроме того, участвуют в синтезе витаминов группы В и витамина К.

Для проведения лабораторных исследований нами было сформировано 3 подопытных группы по 50 голов цыплят-бройлеров в каждой, приобретенных на ОАО «Витебская бройлерная птицефабрика». Птица контрольной группы получала только стандартный полнорационный комбикорм, также приобретенный на ОАО «Витебская бройлерная птицефабрика». Цыплятам-бройлерам 1-й опытной группы выпаивали «Ветлактофлор-М» (на молоке) в дозе 0,1-0,2 мл/гол, а цыплятам-бройлерам 2-й опытной группы выпаивали «Ветлактофлор-С» (на сыворотке) в дозе 0,1-0,2 мл/гол.

МВИ на отбор проб Методические указания по отбору биологического материала для проведения лабораторных исследований № 10-1-5/1031. ТНПА о проведении исследований «Методические указания по выполнению биохимических исследований крови животных с использованием диагностических наборов» № 10-1-5/914. Условия проведения испытаний: температура 22,9 °С, относительная влажность 75 %. При проведении биохимических исследований было применено следующее испытательное оборудование и средства измерений: спектрофотометр СФ 2000-М, фотоэлектроколориметр КФК – 30М, флюорат -02М, МГА – 915, автоматический биохимический анализатор Eurolyser, дозаторы: Р 200 №Х56693С и Н 20 № Х66029А, центрифуга erpendorf и термостат ТС.

Результаты исследований. Взятие крови для изучения гематологических показателей нами осуществлялось в 1-, 7-, 14-, 21-, 28-, 35- и 42-дневном возрасте. Цыплята-бройлеры суточного возраста имели стандартные биохимические показатели. В таблице 1 представлена динамика естественной резистентности цыплят-бройлеров середины периода выращивания (21 день) и конца периода выращивания (42 дня).

Таблица 26

Биохимические показатели сыворотки крови цыплят-бройлеров, ($X \pm m$)					
Возраст, дней	Группа	Общий белок, г/л	Альбумины, г/л	Глобулины, г/л	A/G
21 дн.	Контрольная	38,88±3,939	17,85±1,393	20,01±2,851	0,89±0,093
	1 опытная	32,41±3,571	15,52±0,884	18,89±2,297	0,88±0,122
	2 опытная	39,16±1,865	16,09±1,452	23,07±1,396	0,71±0,080
42 дн.	Контрольная	32,77±1,102	9,41±1,880	23,36±2,050	0,40±0,091
	1 опытная	35,66±0,924	11,65±0,696	24,08±1,140	0,49±0,048
	2 опытная	34,12±1,687	9,48±0,829	24,64±1,575	0,38±0,0619

Примечание: (здесь и везде)

* – достоверное отличие с контролем при $P < 0,05$;

** – достоверное отличие с контролем при $P < 0,01$;

*** – достоверное отличие с контролем при $P < 0,001$.

1 опытная – разведение на молоке

2 опытная – разведение на сыворотке

Результаты исследования крови цыплят-бройлеров показывают, что препарат, разведенный как молоком, так и молочной сывороткой, на протяжении всего технологического цикла выращивания оказывает положительное влияние на биохимические показатели сыворотки крови. Однако наиболее выраженные изменения были отмечены в группе, где испытуемый препарат разводили молоком. Данные таблицы 1 свидетельствуют о достоверном увеличении содержания показателей белкового обмена на протяжении всего эксперимента. Так, уровень общего белка в 1-й опытной группе к концу исследований был выше, чем в крови цыплят контрольной группы, на 8,10% ($P < 0,05$), во 2-й опытной группе – на 3,96% ($P < 0,01$). Концентрация альбумина на протяжении всего периода наблюдения в сыворотке крови цыплят исследуемых групп была выше по отношению к контрольной группе. Схожая тенденция наблюдалась при определении количества глобулинов. К 42 дню жизни цыплят-бройлеров содержание глобулинов в обеих опытных группах по сравнению с контрольной величиной было выше на 2,97% ($P < 0,01$) и на 5,19% ($P < 0,05$) соответственно.

Данные, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что в контрольной группе отмечался рост уровня холестерина и триглицеридов на протяжении всего эксперимента, тогда как в опытных группах данные показатели увеличивались до 35 дня жизни, а в последующем, к 42 дню, регистрировали их снижение. Высокое содержание триглицеридов является следствием нарушения процессов жирового обмена, что приводит к избыточному накоплению жиров в печеночной ткани и развитию жировой дистрофии. В опытных группах при выпаивании испытуемого препарата отмечалось снижение данных показателей, что является профилактикой дистрофических изменений в печени.

Таблица 27

Показатели липидного и ферментного обменов сыворотки крови цыплят-бройлеров, ($X \pm m$)

Возраст, дней	Группа	Холестерин, ммоль/л	Триглицериды ммоль/л	АсАТ, МЕ/л	АлАТ, МЕ/л
21 дн.	Контрольная	2,85±0,088	0,80±0,207	292,69±4,549	12,51±1,067
	1 опытная	2,41±0,106	0,89±0,176	263,86±17,044	12,19±0,957
	2 опытная	3,09±0,151	0,77±0,116	273,73±9,295	12,74±1,276
42 дн.	Контрольная	4,09±0,181	0,76±0,082	381,38±79,029	8,06±3,821
	1 опытная	3,81±0,218	0,75±0,104	331,542±63,51	8,69±2,076
	2 опытная	3,34±0,101	0,58±0,065	272,76±48,698	9,25±1,696

На протяжении всего периода наблюдения отмечали повышенную активность ферментов аминотрансфераз в сыворотке крови опытных цыплят (таблица 3). Высокий уровень аспартатаминотрансферазы указывает на усиление процессов синтеза щавелевоуксусной кислоты, необходимой для выработки энергии. Активность аланинаминотрансферазы в крови цыплят всех групп не превышала допустимых значений нормы.

Как видно из таблицы 3, содержание глюкозы увеличивалось в крови цыплят всех групп. Колебания данного показателя происходили в незначительных границах. Однако максимальное значение данного показателя регистрировали во 2-й опытной группе к 42 дню исследований. Повышение концентрации глюкозы указывает на интенсивное усвоение углеводов корма.

У птиц всех групп выявлены процессы нарушения почечной фильтрации: избыточное содержание мочевой кислоты, кальция при сниженном уровне фосфора. К 42 дню жизни содержание мочевой кислоты в контрольной группе снижалось на 69,26%, в 1-й опытной – на 120,71%, во 2-й опытной – на 92,97% ($P < 0,01$). Уровень кальция в сравнении с первоначальными значениями увеличивался во всех подопытных группах, так в контрольной группе содержание данного показателя возросло на 62,24%, в 1-й опытной – на 79,77% ($P < 0,01$), во 2-й опытной – на 69,23% ($P < 0,001$).

Таблица 28

Показатели углеводного и минерального обменов сыворотки крови цыплят-бройлеров, (X±m)

Возраст, дней	Группа	Глюкоза, ммоль/л	Мочевая кислота мкмоль/л	Магний, ммоль/л	Са, ммоль/л	P, ммоль/л
21 дн.	Контрольная	14,92±1,489	503,88±49,533	0,63±0,051	1,31±0,100	1,11±0,062
	1 опытная	13,70±0,605	466,76±47,565	0,74±0,033	0,89±0,079	0,87±0,103
	2 опытная	14,41±0,485	489,78±50,024	0,76±0,046	1,12±0,089	1,25±0,139
42 дн.	Контрольная	13,75±1,278	396,75±18,420	0,86±0,0635	3,47±0,573	1,56±0,177
	1 опытная	11,75±0,412	288,04±29,010	0,97±0,071	4,40±0,817	1,27±0,040
	2 опытная	16,27±1,595	275,82±15,438	0,90±0,050	3,64±0,179	1,38±0,152

Аналогичная тенденция отмечалась в динамике содержания фосфора. По сравнению с 21 днем жизни концентрация фосфора повышалась в контрольной группе на 9,42%, в 1-й опытной – на 31,49% (P<0,01), во 2-й опытной – на 28,84% (P>0,05).

Таблица 29

Показатели естественной резистентности сыворотки крови цыплят-бройлеров, (X±m)

Возраст, дней	Группа	Бактерицидная активность сыворотки крови	Лизоцимная активность сыворотки крови
21 дн.	Контрольная	18,28±2,707	26,40±0,427
	1 опытная	16,21±1,528	28,34±0,320
	2 опытная	16,19±3,169	28,54±0,603
42 дн.	Контрольная	17,00±1,400	22,22±0,76
	1 опытная	22,26±15,308	25,24±0,446
	2 опытная	20,29±2,873	24,88±0,466

В ходе эксперимента были проведены исследования, характеризующие воздействие препарата на показатели неспецифической резистентности организма птиц – бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови. Исследование данных факторов показало, что профилактические мероприятия, включающие применение исследуемого препарата, способствовало их повышению (таблица 4). Уровень бактерицидной активности сыворотки крови к 42 дню жизни в 1-й опытной группе был выше контрольной величины на 23,62% (P<0,01), а во 2-й опытной группе – на 16,21% (P>0,05). Показатель лизоцимной активности сыворотки крови также превосходил контрольное значение у цыплят 1-й группы – на 11,96% (P>0,05), а во 2-й группе – на 10,69% (P>0,05).

Таблица 30

Гематологические показатели крови цыплят-бройлеров, (X±m)

Возраст, дней	Группа	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, ×10 ¹² /л	Лейкоциты, ×10 ⁹ /л
21 дн.	Контрольная	208,8±14,667	2,28±0,084	25,81±0,826
	1 опытная	204,20±4,487	2,29±0,056	25,82±0,846
	2 опытная	184,60±18,556	2,37±0,046	25,79±0,889
42 дн.	Контрольная	113,00±9,675	1,97±0,114	27,93±0,851
	1 опытная	118,93±8,877	1,97±0,183	29,26±0,528
	2 опытная	119,71±3,877	1,59±0,006	28,47±0,683

Данные таблицы 5 показывают, что на протяжении технологического цикла выращивания цыплят-бройлеров отмечалась общая тенденция к снижению уровня гемоглобина и эритроцитов. В отношении количества лейкоцитов, наоборот, их число к 42 дню увеличилось в контрольной группе на 7,59%, в 1-й опытной – на 11,84%, во 2-й – на 9,41% (P<0,05).

Закключение. В настоящее время уже доказана эффективность применения пробиотиков в промышленном птицеводстве. При применении пробиотиков снижается процент заболеваний желудочно – кишечного тракта, увеличивается сохранность птицы, темпы прироста живой массы птицы.

Выпаивание исследуемого средства, разведенного как молоком, так и сывороткой в технологическом цикле выращивания цыплят-бройлеров способствует нормализации основных биохимических показателей, таких как общий белок, мочевая кислота, кальций и фосфор, увеличению глобулиновой фракции, повышению бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, более выраженный эффект проявляется при применении препарата, разведенного молоком.

Литература: 1. Соколова, К.Я. Научное обоснование необходимости использования пробиотиков в птицеводческих хозяйствах / Соколова К.Я., Соловьева И.В., Григорьева Г.И. // Клуб потребителей АГРО <http://argonet.ru/nauchnoe-obosnovanie-neobhodimosti-ispolzovaniya-probiotikov-v-ptitsevodcheskih-hozyay.html>. 21.09.2012 г., 5.00. 2. Пробиотики в промышленном птицеводстве / Управление ветеринарии Кировской области // http://www.vetuprkirov.ru/our_publications/?ELEMENT_ID=474&SECTION_ID= 21.09.2012 г., 5.00. 3. Денисов, Г.В. Обоснованность применения пробиотиков в промышленном птицеводстве / Г.В. Денисов // <http://webpticeprom.ru/ru/articles-veterinary.html?pageID=1230045127> 21.09.2012г., 5.10.4. Борознова, А.С. Особенности гемопоза цыплят-бройлеров в возрастном аспекте при применении «Бифидофлорин жидкий» / Борознова А.С., Карпуть И.М. // Науч.-практ. журнал «Ученые Записки УО ВГАВМ», т. 46, вып. 2, 2010 г., стр. 74-76. 5. Корма и биологически активные вещества / Н.А. Попков [и др.] – Минск: Беларуская навука, 2005. – 882 с. 6. Новые пробиотики из уробактерий в птицеводстве // Птицефабрика. – 2007. – №2. – С.48. 7. Панин, А.Н. Пробиотики: теоретические и практические аспекты / А.Н. Панин, Н.И. Малик, И.Ю. Вершинина // Био. – 2002. – № 3. – С. 9–12. 8.

Сравнительное применение пробиотиков в птицеводстве [Влияние на продуктивность цыплят-бройлеров] /А.А.Овчинников, Ю.В. Пластинина, В.А.Ишимов// Зоотехния. – 2008. – № 5. – С. 8–10. 9. Тохтиев, А: Применение пробиотиков в птицеводстве// Птицеводство. – 2009. – № 12. – С.25–26.

Статья передана в печать 27.09.2012 г.

УДК 619:614.48.

ИСПЫТАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «ЭСТАВЕТ»

Готовский Д.Г.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Для дезинфекции воздуха и поверхностей помещений в присутствии животных предложен новый препарат на основе четвертичных соединений аммония, который обладает выраженным бактерицидным действием и не токсичен для животных при длительном использовании.

For disinfection in the air and premise surfaces in the animal presence a new preparation was suggested on the basis quarter ammonium connections, which possessing expressed bacterial activity and non toxic for animal use for a long period of time.

Введение. На современном этапе важнейшим звеном в общей системе ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на профилактику и ликвидацию инфекционных заболеваний животных, является дезинфекция воздуха и производственных поверхностей животноводческих помещений [2, 3, 4, 6].

Значение дезинфекции во многом обусловлено особенностью современной технологии выращивания и содержания животных на промышленной основе, предусматривающей сосредоточение значительных поголовий на сравнительно небольших производственных площадях. При этом в процессе многолетней эксплуатации одних и тех же животноводческих построек неизбежно возникает ряд проблем, связанных с «биологической усталостью» помещений, обусловленной обильным обсеменением воздуха и производственных поверхностей патогенной и условно-патогенной микрофлорой. При содержании животных в таких условиях их организм находится под постоянной антигенной нагрузкой (микробным прессингом), что является причиной повышенной выбраковки и падежа.

Для дезинфекции животноводческих помещений в настоящее время используют достаточно широкий арсенал дезинфицирующих средств, действующие вещества которых относятся к различным группам химических соединений и поэтому обладают избирательным биоцидным действием по отношению к различным возбудителям инфекционных заболеваний.

Следует отметить, что в результате многолетнего использования традиционных дезинфицирующих средств участилось появление резистентных к их воздействию штаммов микроорганизмов, грибов и вирусов. Кроме того, большинство из них опасны для окружающей среды, что связано с содержанием в них таких потенциальных ксенобиотиков, как альдегиды, хлор, производные фенола. Многие из препаратов, в частности йод, хлорсодержащие препараты, щёлочи и кислоты также агрессивны в отношении производственного оборудования. Поэтому с целью повышения качества проведения дезинфекции в условиях современных животноводческих предприятий возникает необходимость в создании и внедрении малотоксичных и неагрессивных дезинфектантов отечественного производства [6, 7, 8, 9].

В последнее время вышеуказанным критериям безопасности, предъявляемым к дезинфицирующим средствам, отвечают многокомпонентные препараты из группы ПАВ (поверхностно-активных веществ), сочетающие в себе моющие и дезинфицирующие свойства. Их подразделяют на анионные, катионные и амфотерные соединения. При этом наибольшей бактерицидной активностью обладают катионные ПАВ, из которых чаще всего применяют препараты из группы четвертичных аммониевых соединений (ЧАС).

В отличие от других групп дезинфицирующих веществ, ЧАС обладают рядом преимуществ: моющие свойства, низкая токсичность и агрессивность к строительным материалам. Следует отметить, что большинство препаратов на основе ЧАС, применяемых в нашей республике, производится за рубежом [1, 4, 7, 8, 10].

Исходя из вышеизложенного, основная цель нашей работы – изучение токсичности и эффективности бактерицидного действия нового отечественного дезинфектанта на основе ЧАС – «Эставет».

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в три этапа. На первом этапе изучалась токсичность дезинфицирующего средства. В частности исследовали: острую токсичность при введении в желудок, острую ингаляционную токсичность, местно-раздражающее действие на кожные покровы; кожно-резорбтивное действие, раздражающее действие на слизистые оболочки и орган зрения; сенсибилизирующую активность.

Исследования проводили на линейных белых крысах, мышах, морских свинках и кроликах. В работе использовали животных 2,5–4 - месячного возраста. 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», утвержденным главным управлением ветеринарии с Государственной ветеринарной и Государственной продовольственной инспекциями Минсельхозпрода Республики Беларусь 16.03.2007, № 10-1-5/198.

Острую токсичность дезинфицирующего средства «Эставет» при введении в желудок изучали на клинически здоровых белых мышах живой массой 18–25 г, ранее не подвергавшихся токсическому воздействию.

В каждом опыте испытывали 5–6 доз дезинфицирующего средства «Эставет», причем низшая из них не вызывала гибели животных, а высшая обеспечивала 100%-ную гибель. Интервал между дозами увеличивали с постоянной кратностью, каждую дозу испытывали на не менее чем на 6-10 животных.

Концентрированный раствор дезинфицирующего средства «Эставет» белым мышам вводили принудительно непосредственно в желудок с помощью автоматической пипетки-дозатора. Дезинфектант вводили в желудок натошак в виде водного раствора.

После затравки за животными наблюдали в течение 2 недель, обращая внимание на их поведение, внешний вид, аппетит, жажду, степень проявления реакции на внешние раздражители, наличие рвоты, саливации, видимых кровоизлияний, частоту дыхания, тремор, наличие судорог, парезов, параличей и других патологических симптомов. Особое внимание обращали на время возникновения и характер интоксикации, сроки гибели животных. 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.

По степени опасности при однократном введении в желудок «Эставет» классифицировали согласно ГОСТ 12.1.007-76.

Острую ингаляционную токсичность изучали при воздействии разовой концентрации препарата в виде 2 и 4 % рабочих растворов в период экспозиции методом статической затравки, по насыщающей концентрации. Белых мышей помещали на 4 часа в герметично закрытый эксикатор, животные контрольной группы находились в пустом эксикаторе. В течение опыта и на протяжении 16 суток наблюдали за клиническими признаками отравления. О токсическом действии судили по изменению массы тела, температуры и состоянию нервной системы.

Оценку кожно-резорбтивного и местно-раздражающего действия дезинфицирующего средства «Эставет» на кожные покровы изучали на кроликах. На выстриженные участки кожных покровов размером 2x3 см равномерно, открытым способом на 4 часа при температуре окружающей среды 18–24°C наносили концентрированный раствор дезинфицирующего средства в объеме 0,1 мл, а на симметричный участок кожи – воду. Для исключения слизывания средства с кожи и поступления его внутрь через органы дыхания, животных фиксировали в специальных индивидуальных клетках. По окончании четырехчасовых аппликаций остатки вещества удаляли теплой водой с мылом, избегая повреждений кожи. Период наблюдений за состоянием кожных покровов составлял две недели. О наличии раздражающих свойств судили по появлению на месте аппликации гиперемии, отека, утолщения кожной складки, расчесов, болезненности участка при пальпации.

Исследование раздражающего действия на слизистые оболочки и орган зрения дезинфицирующего средства «Эставет» проводили на 6 кроликах (по 3 на каждый опыт) методом конъюнктивальных проб. Исследовали наибольшую рабочую концентрацию, применяемую в практических условиях для дезинфекции (2%) и концентрат дезсредства. Для этого в нижний конъюнктивальный свод правого глаза однократно вносили 2%-ный водный и нативный растворы в количестве 50–100 мкл (2 капли), левый глаз при этом служил в качестве контрольного (закапывали 1–2 капли дистиллированной воды).

На втором этапе проводилось испытание бактерицидного действия в условиях аэрозольной камеры [4, 5]. Дезинфицирующее средство изучалось в виде 0,1; 0,3; 0,4; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5 и 2 % растворов.

Для оценки степени бактерицидного действия использовали тест-культуры (*Staphylococcus aureus* № 25923, *Escherichia coli* ATCC № 25922 и *Mycobacterium smegmatis* cip 73.26). Из суточных тест-культур готовили взвесь на физиологическом растворе с концентрацией 1 миллиард микробных тел по оптическому стандарту. Взвесь микробных культур наносили равномерным слоем на поверхность тест-объектов (доски, бетон, оцинкованное железо, пластмасса, стекло и керамическая плитка) из расчёта 10 млн. на 1 см². Для чего на каждые 100 см² поверхности тест-объектов наносили по 1 мл суспензии.

После контаминации тест-объектов на их поверхность равномерно наносили испытываемые разведения дезинфицирующего средства методом орошения с помощью спрея, создающего грубодисперсный аэрозоль.

Через 30 и 60 мин после проведения аэрозольной дезинфекции с участков тест-объектов, подвергаемых бактериологическому контролю (размером 10x10 см), стерильными ватными тампонами отбирали пробы, нейтрализовали их стерильной водопроводной водой. В дальнейшем проводили двукратное центрифугирование проб при 2500 об/мин по 30 мин. Осадок, полученный после второго центрифугирования, разбавляли 1 мл стерильного физиологического раствора и высевали по 0,5 мл на среду КОДА (*Escherichia coli*), 8,5 % солевой агар (*Staphylococcus aureus*) и среду Гельберга (*Mycobacterium smegmatis*).

Один из заражённых тест-объектов служил контролем. Дезинфицирующие растворы препарата на его поверхность не наносили. О качестве дезинфекции судили по наличию роста колоний вышеуказанных микроорганизмов.

Определение бактерицидных свойств «Эставет» также проводилось качественным суспензионным методом. Препарат изучали в виде 0,1; 0,25; 0,3; 0,5; 0,75; 1,0 и 1,5% растворов.

Для проведения исследований использовали суспензии тест-культур микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* № 25923, *Escherichia coli* ATCC № 25922 и *Mycobacterium smegmatis* cip 73.26. Для

приготовления суспензии использовали суточные культуры, выращенные на скошенном МПА (стафилококк и кишечная палочка) и среде Гельберга (микобактерии) вышеуказанных микроорганизмов, которые смывали стерильным физиологическим раствором и доводили до концентрации 1 миллиард микробных тел в 1 мл суспензии. К 0,1 мл суспензии каждого из тест-микроорганизмов добавляли 9 мл испытуемого дезсредства в вышеуказанных концентрациях. Кроме того, проводили дополнительные испытания бактерицидных свойств «Эставет» в условиях имитации органического загрязнения для чего в смесь дезсредства и суспензий вводили 20% (от общего объёма смеси) лошадиной сыворотки. Время экспозиции суспензии и дезинфицирующего средства составляло 15, 30, 60 и 90 мин. После чего каждое разведение суспензии в дезрастворе встряхивали и дали пересев с помощью бактериологической петли на поверхность чашек Петри с МПА или средой Гельберга и помещали в термостат для инкубации.

Об эффективности дезинфицирующего средства судили по наличию роста колоний тест-микроорганизмов на поверхности плотных питательных сред.

На третьем этапе изучалась эффективность бактерицидного действия препарата при проведении дезинфекции различных животноводческих объектов (коровников и птичников). Бактериологический контроль качества дезинфекции проводили по наличию в воздухе и на поверхностях обрабатываемых помещений жизнеспособных клеток санитарно-показательных микроорганизмов, относящихся к 1-ой и 2-ой группе устойчивости к дезинфицирующим средствам (контроль качества проведения дезинфекции по наличию кишечной палочки и стафилококков).

Результаты исследований. Было установлено, что при однократном внутрижелудочном введении дезинфицирующего средства «Эставет» максимально недействующая доза составила 3000 мг/кг, а минимальное количество дезинфектанта, приводящее к гибели всех мышей (ЛД₁₀₀) – 7000 мг/кг. Картина острого отравления белых мышей проявлялась беспокойством и агрессивностью, учащённым дыханием, бледностью видимых слизистых оболочек, парезом и судорогами задних конечностей, все заканчивалось гибелью животных в течение первых двух суток.

Таким образом, ЛД₅₀ дезинфицирующего средства «Эставет» составляет 5500 мг/кг, а препарат согласно ГОСТ 12.1.007–76, относится к IV классу опасности (вещества малоопасные).

При оценке острой ингаляционной токсичности препарата установлено, что состояние подопытных животных за весь период ингаляционного воздействия и в последующие дни наблюдений не отличалось от животных контрольной группы. Гибели мышей не отмечено. Хроническая ингаляционная токсичность не изучалась, так как средство «Эставет» в силу низкой его летучести заведомо не будет обладать хронической ингаляционной токсичностью и может быть отнесено к IV классу малоопасных веществ по параметрам острой ингаляционной токсичности.

Также установлено, что при нанесении на выстриженную кожу кроликов нативного дезинфицирующего средства «Эставет» не было отмечено признаков раздражения (наличие эритемы, отеков кожи, утолщения кожной складки) у всех подопытных животных. Повторные аппликации нативного раствора «Эставет» не оказывали повреждающего действия на кожные покровы подопытных кроликов.

При однократном нанесении на слизистые глаз рабочего (2%) раствора препарата он оказывал умеренное раздражающее действие. Нанесение на слизистые глаз дезсредства в нативном виде сопровождалось блефароспазмом, значительной гиперемией конъюнктивы, обильным выделением из глаз и выраженным отеком век.

При проведении лабораторных исследований бактерицидных свойств препарата отмечено, что полное обеззараживание всех контаминированных тест-объектов из непористых материалов (жест, керамическая плитка, пластмасса, стекло) достигалось при использовании дезсредства во всех испытуемых разведениях рабочих растворов от 0,1 до 2,0 %, при экспозиции 30 и 60 мин.

Полное обеззараживание всех тест-объектов (в т.ч. объектов из пористых материалов: бетон, деревянные доски) достигалось при использовании рабочих растворов дезсредства в концентрации от 0,75 до 2,0 %, при экспозиции 30 и 60 мин.

Следует отметить, что бактерицидное действие препарата при испытании в качественном суспензионном тесте проявлялось в минимальных разведениях 0,1-0,3% при экспозиции не менее 60 мин. В остальных изучаемых разведениях (0,4-1,5%) препарат проявлял свои бактерицидные свойства при минимальной экспозиции – 15 мин.

При проведении производственных испытаний водных растворов препарата при дезинфекции животноводческих (птицеводческих) помещений «Эставет» применяли в виде объёмного аэрозоля и методом орошения.

Вначале изучались бактерицидные свойства аэрозоля «Эставет» при санации воздуха в присутствии цыплят-бройлеров в условиях птицеводческого предприятия. Объёмную аэрозольную дезинфекцию проводили в двух птичниках бройлерного цеха в присутствии 37030 цыплят-бройлеров 21-дневного возраста. Для создания аэрозоля использовали генератор «холодного» тумана типа «ЦИКЛОН-1». Дезинфицирующее средство применяли в виде 0,5% раствора из расчёта 3-4 мл/м³ воздуха. Экспозиция аэрозоля после распыления в каждом птичнике составила 20-25 мин.

После проведения объёмной аэрозольной дезинфекции отмечено снижение общего количества микроорганизмов в воздухе помещений с 520 тыс. КОЕ/м³ до 340 КОЕ/м³ (т.е. в 1,5 раза ниже по сравнению с исходным бактериальным фоном). При бактериологическом исследовании смывов, взятых с поверхности оборудования птичников (бункерные кормушки, поилки, стены) в 50% от общего числа взятых проб-смывов кишечной палочки не обнаружено. После повторной санации воздуха в птичниках наличия кишечной палочки на поверхностях оборудования птичников не обнаружено. При бактериологическом исследовании смывов, взятых с поверхности ограждающих конструкций до проведения дезинфекции в птичниках, в них отмечено наличие кишечной палочки.

В период проведения аэрозольной дезинфекции воздуха не наблюдалось изменений клинического состояния цыплят-бройлеров (беспокойства, кашля и др. патологических реакций).

В дальнейшем изучались бактерицидные свойства «Эставет» при проведении дезинфекции методом орошения с помощью ДУК. Дезинфекцию проводили в птичнике, освобожденном от птиц. Перед проведением дезинфекции в помещении проводилась механическая чистка и мойка. Препарат применяли в виде 1,5% раствора из расчета 0,75 л на 1 м² площади помещения. Экспозиция препарата после проведения дезинфекции в птичнике составила 1 час.

Было установлено, что при взятии смывов с различных поверхностей помещения после обработки и проведения их бактериологического исследования наличия кишечной палочки и стафилококков не установлено. При бактериологическом исследовании смывов, взятых с поверхности ограждающих конструкций до проведения дезинфекции птичника, в них отмечено наличие санитарно-показательной микрофлоры (кишечной палочки и стафилококков).

На следующем этапе были проведены производственные испытания дезинфицирующего средства «Эставет» на молочно-товарной ферме.

Профилактическую дезинфекцию преддоильной площадки и доильного зала молочного блока, освобожденного от животных, проводили методом орошения с помощью ДУК. Перед дезинфекцией молочный блок подвергался механической чистке и мойке. Дезинфицирующее средство применяли в виде 1,5 % раствора из расчета 0,75 л на 1 м² площади помещения. Экспозиция после проведения дезинфекции на молочном блоке составила 1 час.

Контроль качества дезинфекции проводили по наличию на поверхностях обрабатываемых помещений санитарно-показательной микрофлоры (бактерий группы кишечной палочки) после обработки.

Было установлено, что при взятии не менее 20 смывов с различных поверхностей каждого из помещений после дезинфекции и проведения их бактериологического исследования наличия бактерий группы кишечной палочки не установлено. При бактериологическом исследовании смывов, взятых с поверхности ограждающих конструкций до проведения дезинфекции помещений молочного блока в них отмечено наличие бактерий группы кишечной палочки (кишечной палочки и протей).

Заключение. Таким образом, дезинфицирующее средство «Эставет» при однократном внутрижелудочном введении относится к IV классу опасности, согласно ГОСТ 12.1.007–76 (вещества малоопасные), с величиной ЛД₅₀ для белых мышей 5500 мг/кг. По параметрам острой ингаляционной токсичности средство относится к IV классу малоопасных веществ. При однократном воздействии в виде нативного раствора на неповрежденную кожу не вызывает раздражения и не оказывает сенсibilизирующего действия. При нанесении на слизистые глаз рабочего (2%) раствора он оказывает умеренное раздражающее действие, а при нанесении нативного раствора на слизистые оболочки глаз наблюдается резко выраженное раздражающее действие.

Лабораторные и производственные испытания «Эставет» показали, что средство обладает выраженным бактерицидным действием в отношении возбудителей инфекционных заболеваний, относящихся к 1-ой, 2-ой и 3-ей группам устойчивости к дезинфицирующим средствам. Таким образом, данный дезинфектант ввиду низкой токсичности и хороших дезинфицирующих свойств вполне может быть рекомендован для проведения профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции животноводческих помещений, в том числе санации воздуха в присутствии животных (птиц).

Литература. 1. Банников, В. Вироцид в промышленном птицеводстве / В. Банников // Птицеводство. – 2006. - № 10. – С.44-45. 2. Боченин, Ю.И. Аэрозоли в профилактике инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных / Ю.И. Боченин [и др.] // Ветеринарный консультант. - 2004. - №23-24. - С. 10-18. 3. Ветеринарная санитария: учебное пособие для студентов по специальности «Ветеринария», «Ветеринарно-санитарная экспертиза» и «Товароведение и экспертиза товаров» с.-х. вузов / А.А. Сидорчук [и др.]. – СПб.: Издательство «Лань», 2011. – 386 с.: ил. 4.Высоцкий, А.Э. Бицидная активность и токсикологическая характеристика дезинфицирующего препарата САНДИМ-Д / А.Э. Высоцкий // Ветеринарная медицина Беларуси. - 2005. - № 2.- С.27-30. 5. 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. 6. Черник, М.И. Экологические чистые дезинфектанты и их применение в птицеводстве: автореф. дис. ...канд. ветеринарных наук: 16.00.06 / М.И. Черник. - Минск, 2008. – 17 с. – Библиогр.: с. 13-14 (14 назв.). – В надзаг. :РУП «ИЭВ им. С.Н. Вышелесского». 7. 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. 8. Клёнова, И.Ф. Ветеринарные препараты России: Справочник в 2 томах. Т.1. / И.Ф. Клёнова [и др.]. – М.: Сельхозиздат, 2004. - С. 419-453. 9. Bill, G. Exposure to Glutaraldehyde Alone or in a Fume Mix: a Review of 26 cases / G. Bill // Journal of the NZMRT. - Volume 40. - No 2. - June, 1997. - P.13-17. 10. Grigonis, A. The effect of aerosol and electro aerosol quaternary ammonium saline solutions on bacteria on horizontal and vertical surfaces / A. Grigonis, A. Matusevicius, J. Dobilas, M. Virgailis, A. Stankevicius // Veterinarija ir zootechnika / Lietuvos veterinarijos akad. - Kaunas. – 2005. - T. 31. - N. 53. - P. 20-26.

Статья передана в печать 14.09.2012 г.

УДК:619.619.98: 579.837.21-07(476.1)

СУКЦИСАН – ЭФФЕКТИВНЫЙ ДЕЗИНФЕКТАНТ ДЛЯ САНАЦИИ ОБЪЕКТОВ ВЕТЕРИНАРНОГО НАДЗОРА

Д.Г. Готовский, В.Н. Алешкевич

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Препарат «Сукцисан», состоящий из оксидирующей основы (калия персульфат), органических кислот (янтарная и яблочная кислоты) и поверхностно-активного вещества (натрия

додецилсульфат), обладает выраженным бактерицидным и фунгицидным действием по отношению к возбудителям I и II-го класса устойчивости и грибов, в т.ч. возбудителей дерматофитозов сельскохозяйственных животных и аспергиллеза птиц. Сукцисан предназначен для профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции животноводческих, птицеводческих и других помещений при инфекционных заболеваниях бактериальной, вирусной и грибковой этиологии.

The Succisan compound derived from the oxidized base (potassium persulfate) of the organic acids (succinic and malic acids) and surface active substances (sodium dodecylsulfate) have bactericidal and fungicidal activity to the I and II class agents including the agents of the ringworm and aspergillosis. The Succisan is meant for disinfection (preventive and forced) of the houses in farms for infections of bacterial, viral and fungal etiology.

Введение. В комплексе мероприятий по профилактике и борьбе с инфекционными заболеваниями животных важное место занимает дезинфекция. В промышленном животноводстве и птицеводстве она является составной частью технологического процесса производства продукции. Дезинфекция как целенаправленное противозооотическое мероприятие в профилактике и ликвидации инфекционных заболеваний является действенной только в общем комплексе мер, предусматривающих воздействие на все звенья эпизоотической цепи [4, 5, 9].

Использование высокоэффективных дезинфицирующих препаратов, обладающих широким биоцидным действием, позволяет в значительной степени снизить микробную загрязненность воздуха и ограждающих конструкций животноводческих и птицеводческих помещений, разорвать эпизоотическую цепь и свести до минимума микробное давление на организм животных.

Особенно часто заражение животных многими возбудителями инфекционных заболеваний, в том числе и дерматофитами, происходит зимой, когда животные практически постоянно находятся в помещениях. Поэтому все большее значение приобретает дезинфекция животноводческих помещений в присутствии животных. Для этого в настоящее время применяют ряд препаратов: 3%-ную перекись водорода, гипохлорит натрия (рабочий раствор должен содержать 1,5-2% активного хлора), тексонит, глутаровый альдегид (водный раствор в 0,3-0,4%-ной концентрации), 3%-ный раствор ниртана, йодтриэтиленгликоль, 1,5-2%-ные растворы моносодиевой соли дихлор-изоциануровой кислоты, аэрозоли хлор-скипидара, молочной кислоты, резорцин, комбинированный дезинфектант поверхностей (КДП), Сандим-Д, 0,5-3%-ные растворы глукткса, 3%-ные растворы витана, белстерил, аламинол, Пемос-1, дезавит-П, инкрасепт-10А, бромосепт 50, 1%-ный раствор теотропина, Дезосан-Вигор, йодез, экокцид [1, 2, 3, 6, 8].

Данные литературных источников также свидетельствуют, что в результате высокой устойчивости возбудителей дерматофитозов животных, аспергиллеза птицы и других грибковых инфекций к воздействию физических и химических факторов выбор дезинфицирующих средств ограничен, несмотря на то, что в наставлениях по применению препаратов в отношении микроорганизмов, относящихся ко 2-ой группе устойчивости, указывается на чувствительность к ним грибковой микрофлоры. С учётом возросших требований по охране природной среды от загрязнения патогенными микроорганизмами в борьбе с инфекционными болезнями, в т.ч. грибковой этиологии, актуальной задачей ветеринарно-санитарной науки и практики является необходимость изыскания новых и совершенствования существующих дезинфицирующих средств [7].

Препарат «Сукцисан» изготовлен в УП «Витебский завод ветеринарных препаратов». Это новый дезинфицирующий препарат широкого спектра действия, который состоит из оксидирующей основы (калия персульфат), органических кислот (янтарная и яблочная кислоты) и поверхностно-активного вещества (натрия додецилсульфат). По внешнему виду препарат представляет собой белый мелкодисперсный порошок. В сочетании с органическими кислотами (янтарной и яблочной) калия персульфат является сильнодействующим окислителем, который вызывает окисление микробных гликопротеидов, полипептидов и нуклеиновых кислот. Органические кислоты создают кислую среду, тем самым усиливают биоцидное действие калия персульфата. Натрия додецилсульфат действует в качестве поверхностно-активного вещества, обеспечивающего контакт окислителя с микроорганизмами.

В основу разработки Сукцисана взята композиция для дезинфекции воздуха животноводческих помещений, в соответствии с патентом № 10591 РБ, зарегистрированным в Государственном реестре изобретений 28.01.08 г.

Целью исследований явилось изучение дезинфицирующих свойств препарата «Сукцисан» при использовании его для санации объектов ветеринарного надзора.

Материалы и методика исследований. Работа выполнена в условиях животноводческих предприятий Витебской области РБ, кафедры микробиологии и вирусологии, кафедры гигиены животных УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины».

Испытания препарата проводили в три этапа. На первом этапе проводили лабораторные испытания бактерицидных и фунгицидных свойств водных растворов отдельных составных компонентов Сукцисана и самого препарата. В качестве тест-микробов для изучения бактерицидных свойств препарата и отдельных его компонентов использовали суточные культуры следующих микроорганизмов: *Staph. epidermidis*, *Staph. aureus*, *Staph. saprophyticus*, *St. pneumoniae*, *E. coli*, *S. choleraesuis*, *Y. enterocolitica*, *Pr. vulgaris*, *Ps. aeruginosa*, *P. multocida*, *Er. rhusiopathiae*, *Cl. perfringens*, *B. subtilis*, *Myc. terrae*, *Tr. verrucosum*, *As. niger*.

Препарат испытывали в виде – 1 - 10%-го растворов при разной экспозиции: 1 ч, 3 ч и 6 ч. После контакта дезсредства с бактериальными культурами проводился посев на питательные среды.

Противовирусные свойства препарата изучали на модели вирусов Ньюкаслской болезни (штамм Т-53), инфекционной бурсальной болезни (52/70М) и инфекционного бронхита птиц (штамм Чапаевский). С этой целью вирусосодержащую околплодную жидкость развивающихся куриных эмбрионов с титром не ниже 10^8 ЭИД ставили на контакт с препаратом по вышеуказанной методике. После контакта возбудителя

с дезинфектантом к каждой пробе добавляли нейтрализатор в объеме, равном объему пробы. Через 1-2 часа после этого заражали в аллантаическую полость 9 дневные РКЭ в дозе 0,1 мл (по 4 РКЭ на разведение) и инкубировали в течение 72 часов при 37,5°C. Контролем служили РКЭ, зараженные не обработанным вирусом. Ежедневно проводили овоскопию эмбрионов. Результаты учитывали по гибели эмбрионов, специфическим патологоанатомическим изменениям, результатам РГА.

На втором этапе изучали эффективность бактерицидного и фунгицидного действия водных растворов и аэрозоля данного препарата в условиях органического загрязнения поверхностей различных тест-объектов (кирпича, оцинкованной жести, дерева и керамической плитки), контаминированных тест-микробами и грибами. Для выяснения эффективности действия растворов Сукцисана в условиях органического загрязнения проводили опыты со *Staph. aureus*, *E. coli*, *Tr. verrucosum*, *Muc. terrae*, *Aspergillus niger*. С этой целью суспензией бактерий и спор грибов (1мл/мл) опрыскивали вышеуказанные тест-объекты. После высыхания их обрабатывали раствором овоальбумина (20 мг/мл) и 3%, 5%, 10%-ми растворами «Сукцисана», исходя из расчета нормы расхода препарата-аналога «Экоцид» 0,5-1 л/м². В качестве контроля несколько инфицированных тест-объектов обрабатывали стерильной водой. Через 30, 60, 120, 180, 240 мин делали смывы с тест-объекта и сеяли по 0,2 мл на вышеуказанные питательные среды. Посевы инкубировали при 26-38°C в течение 1-25 дней. О качестве дезинфекции судили по наличию и характеру роста стафилококков, кишечной палочки, микобактерий, клостридий, аспергиллов и дерматофитов.

Оценку бактерицидных свойств аэрозоля Сукцисана проводили в условиях аэрозольной камеры объемом 17 м³. Препарат применяли в виде 1-5% растворов с экспозицией аэрозоля после распыления в камере 1-2 ч из расчета 5-10 мл/м³ камеры. Для получения объемного аэрозоля использовали портативный аэрозольный генератор «Небуло», создающий среднедисперсный аэрозоль с размером частиц 5-30 мкм.

Для оценки степени бактерицидного действия использовали тест-культуры (*Staph. aureus*, *E. coli*, *Tr. verrucosum*, *As. niger*). Из культур готовили взвесь на физиологическом растворе с концентрацией 1 миллиард микробных тел, которую наносили равномерным слоем на поверхность тест-объектов (доски, кирпичи, оцинкованное железо и керамическая плитка) из расчета 10 млн. на 1 см², для чего на каждые 100 см² поверхности наносили 1 мл суспензии. Контаминированные тест-объекты располагали в камере в вертикальном и горизонтальном положении, после чего в помещение вводили аэрозоль. После экспозиции аэрозоля проводили бактериологическую оценку путём взятия смывов с поверхности тест-объектов.

На третьем этапе испытания бактерицидных свойств препарата проводили в условиях ОАО «Рапс» Городокского района и КУСХП «Городокский», неблагополучных по трихофитии крупного рогатого скота. Нами проведена профилактическая аэрозольная дезинфекция воздуха в телятниках в присутствии 400 и 180 животных соответственно. В условиях ОАО «Птицефабрика Городок» также проведена профилактическая аэрозольная дезинфекция воздуха в птичнике № 6 в присутствии 38570 голов кур-несушек. В условиях свинокмплекса КСУП «Северный» проведена профилактическая аэрозольная дезинфекция воздуха в свинарнике в присутствии 600 поросят на доращивании. Для создания аэрозоля использовали генератор «холодного тумана» типа ИГЕБА. Исследуемый препарат использовали в виде 3% (птичник) и 5% (телятник и свинарник) растворов из расчета 1,5 и 2-3 мл/м³ соответственно, при экспозиции аэрозоля 30-40 мин.

В сравнительном аспекте проведены дополнительные исследования эффективности дезинфицирующих свойств препарата «Сукцисан» и препарата-аналога «Экоцид» в условиях ОАО агрокомбинат «Юбилейный» Оршанского района Витебской области. Испытания проводили в 4-х секторах Пигбалия. Объемную аэрозольную дезинфекцию в 2-х секторах проводили в присутствии поросят (по 250 голов в каждом помещении). В одном из секторов применяли Сукцисан в виде 3% раствора из расчета 2 мл/м³ воздуха, в другом раствор препарата «Экоцид» в такой же концентрации из расчета 3 мл/м³. Экспозиция препаратов составляла 30 мин. В двух секторах Пигбалия, освобожденных от животных, препараты применяли в виде 5% растворов из расчета 10 мл/м³ воздуха помещений. Экспозиция аэрозоля каждого из препаратов 2 ч.

Проведение бактериологического контроля качества дезинфекции осуществляли в соответствии с «Методическими указаниями по контролю качества дезинфекции и санитарной обработки объектов, подлежащих ветеринарно-санитарному надзору», утвержденными ГУВ МСХ и П Республики Беларусь 18.06.2007, № 10-1-5/567.

Результаты исследований. В результате проведения первой серии лабораторных опытов по определению чувствительности микроорганизмов в культуре к отдельным компонентам препарата установлено, что к 2% раствору яблочной кислоты взятые в опыт микроорганизмы не чувствительны и проявляют рост на питательных средах после 1-6 - часового контакта с вышеуказанным веществом. 4%-ные растворы яблочной кислоты губительно действуют на возбудителей при 6- часовой экспозиции, кроме аспергиллов. При этом данная концентрация яблочной кислоты обеспечивала гибель *St. pneumoniae*, *E. coli*, *S. choleraesuis*, *Y. enterocolitica*, *Pr. vulgaris*, *Ps. aeruginosa*, *P. multocida* при 3- часовой экспозиции. При увеличении концентрации яблочной кислоты до 8% в растворе гибель всех взятых в опыт микроорганизмов наступала при 3-6- часовой экспозиции.

Исследования показали, что взятые в опыт микроорганизмы не чувствительны к 2%, 4%, 8% растворам лимонной кислоты. Лишь *St. pneumoniae*, *Y. enterocolitica*, *Ps. aeruginosa*, *P. multocida* проявили чувствительность к 8% раствору лимонной кислоты при 6 - часовой экспозиции.

Наилучшими бактерицидными и фунгицидными свойствами к микроорганизмам по результатам экспериментов обладает янтарная кислота. Её 4-8% растворы оказались губительными ко всем взятым в опыт микроорганизмам при 1-6- часовой экспозиции. Лишь при обработке *Aspergillus niger* 4% -ым раствором янтарной кислоты необходима 6- часовая экспозиция.

Слабыми дезинфицирующими свойствами по отношению к микроорганизмам обладали растворы надсернистого калия. Эффективность обеззараживания достигалась 8%-ой концентрацией раствора при 6-ти часовой экспозиции. *Aspergillus niger* оказался устойчивым к данному компоненту предлагаемой композиции для дезинфекции животноводческих объектов.

Тетраборат натрия по результатам исследований даже в 8%-ой концентрации при 6- часовой экспозиции не оказывал губительного действия на микроорганизмы. Только *St. pneumoniae*, *E. coli*, *S. choleraesuis*, *P. vulgaris*, *Ps. aeruginosa*, *P. multocida* погибали при 6- часовом контакте с 8%-ным раствором тетрабората натрия.

2-4%-ные растворы натрия додецилсульфата не оказывали бактерицидного и фунгицидного действия на опытные тест-микроорганизмы. Только 8%-ный раствор данного компонента дезинфицирующей композиции оказался губительным по отношению к микроорганизмам при 3-6- часовой экспозиции.

На основании результатов исследования в дальнейшем нами был скомпонован препарат «Сукцисан» в 1 кг которого содержится 30 г янтарной кислоты, 20 г яблочной кислоты, 40 г калия персульфата, 10 г натрия додецилсульфата, и изучены его бактерицидные и фунгицидные свойства. При этом использовались холодные и горячие (до 60°C) растворы препарата.

1%, 2%, 4% растворы Сукцисана, как показали результаты исследований, не проявляли бактерицидных и фунгицидных свойств по отношению к тест-микробам. 5% раствор Сукцисана только при экспозиции 6 часов оказывал выраженное инактивирующее действие на все микроорганизмы. Наилучшими свойствами обладала 8-10%-я концентрация препарата, как при часовой, так и 3-6 - часовой экспозиции. Вместе с тем *Aspergillus niger* не проявлял роста после контакта с 8% раствором Сукцисана при 6- часовой экспозиции, а с 10% раствором - 3-6- часовой экспозиции. Подогретые до этого растворы дезинфектанта оказывали выраженное бактерицидное и фунгицидное действие при меньшей концентрации и времени экспозиции, особенно это касалось *As. niger*.

В результате проведения второй серии лабораторных опытов по определению чувствительности возбудителей к дезинфектантам в условиях органического загрязнения поверхностей в экспериментальной камере установлено, что Сукцисан в концентрации 8% при экспозиции от 180 до 240 минут проявлял выраженное бактерицидное и фунгицидное действие на микроорганизмы, находящиеся на поверхностях всех тест-объектов (кирпич, дерево, нержавеющая сталь, оцинкованное железо). 4-5% растворы данного препарата не оказывали дезинфицирующего действия на всех возбудителей покрытых белковой пленкой. Таким образом, в 8-10% концентрации при экспозиции 3-6 часов водные растворы Сукцисана оказывают бактерицидное и фунгицидное действие на возбудителей инфекционных заболеваний в условиях органического загрязнения поверхностей. Полная инактивация вируса ньюкаслской болезни, вируса инфекционного бронхита и вируса инфекционной бурсальной болезни наступала при концентрации препарата 4-5% и времени экспозиции 30 минут.

При расчете необходимой дозы (л) подачи раствора Сукцисана на единицу обеззараживаемой поверхности (м²) тест-объектов методом орошения установлено, что при нанесении дезинфектанта из расчета 0,5 л/м² он оказывал слабое бактерицидное и фунгицидное действие на изучаемые в опыте тест-микроорганизмы в условиях органического загрязнения поверхностей тест-объектов. Наиболее оптимальной нормой расхода препарата для обеззараживания поверхностей, загрязненных микроорганизмами, оказалась доза 1 л/м² и выше при 8% концентрации раствора и экспозиции не менее 3 часов.

При проведении лабораторных испытаний бактерицидных и фунгицидных свойств аэрозоля «Сукцисан» обеззараживал все тест-объекты, контаминированные кишечной палочкой и стафилококком) при использовании растворов 4% концентрации из расчёта 5 мл/м³ воздуха аэрозольной камеры и экспозиции 1 ч.

При использовании аэрозоля 2-3% раствора препарата при расходе 5 мл/м³ и экспозиции 1 ч отмечен рост кишечной палочки и стафилококка оцинкованной жести. На других тест-объектах роста вышеуказанных микроорганизмов не отмечено.

Обеззараживание тест-объектов, обсеменённых *Aspergillus niger* и *Tr. Verrucosum*, отмечалось при использовании аэрозоля 10% горячего раствора (с температурой 60°C) Сукцисана из расчёта 10 мл/м³ и экспозиции не менее 3 ч. При использовании холодного 10% раствора препарата в такой же дозировке обеззараживание контаминированных тест-объектов происходило при экспозиции свыше 3 ч.

При проведении производственных испытаний санитарных свойств препарата «Сукцисан» при аэрозольной дезинфекции телятников, свинарника и птичника в присутствии животных было установлено, что после проведения дезинфекции в смывах, взятых с поверхности ограждающих конструкций (пол, стены, кормушки) не выявлено бактерий рода *Staphylococcus*, *E. coli*, *As. niger* и *Tr. verrucosum*, который предварительно выделялся из патматериала от животных больных трихофитией в КУСХП «Городокской» и ОАО «Рапс» Городокского района Витебской области.

При оценке saniрующих свойств препарата установлено, что общее количество микроорганизмов и кишечной палочки, находящихся в воздухе, после проведения дезинфекции снижалось в 1,8 - 2 раза по сравнению с исходным бактериальным фоном.

В ходе производственных испытаний saniрующих свойств препарата «Сукцисан» при проведении аэрозольной дезинфекции птичника в присутствии кур-несушек было установлено, что после обработки в смывах, взятых с поверхности ограждающих конструкций и оборудования птичника (стены, пол; поилки и кормушки клеточных батарей) не выявлено бактерий рода *Staphylococcus* и *E. coli*. В то же время в смывах, взятых с поверхности ограждающих конструкций птичника до проведения дезинфекции, отмечено наличие микроорганизмов из рода *Staphylococcus* и *E. coli*.

При проведении испытаний сравнительной эффективности бактерицидных свойств препарата «Сукцисан» в сравнении с препаратом-аналогом «Экоцид» в условиях Пигалия установлено, что

аэрозольная обработка сектора в присутствии поросят способствовала снижению общей микробной загрязнённости воздуха в 2 (Сукцисан) и 1,75 раза (Экоцид).

Кроме того, для оценки saniрующих свойств препарата «Сукцисан» исследовали смывы с поверхности кожного покрова поросят до и после проведения дезинфекции. При этом в смывах, взятых с поверхности кожного покрова до проведения дезинфекции, отмечен рост кишечной палочки и возбудителей дерматофитоза. После проведения объёмной дезинфекции в смывах, взятых с поверхности кожи поросят роста кишечной палочки не было. Аналогичные результаты получены и при использовании препарата «Экоцид».

В период проведения аэрозольной дезинфекции воздуха не отмечено изменений клинического состояния животных (беспокойства, кашля, чихания и др. патологических реакций).

При проведении аэрозольной дезинфекции препаратом «Сукцисан» и дезсредством-аналогом «Экоцид» в секторах Пигбалия, освобожденных от животных, установлено, что после проведения обработки при взятии смывов и бактериологическом исследовании с различных поверхностей помещений наличия кишечной палочки не установлено. Схожие результаты получены при бактериологическом исследовании смывов на наличие стафилококков. Так, в 80% от общего числа смывов, взятых после проведения дезинфекции, роста данного микроорганизма не отмечено, в остальных пробах отмечен рост единичных колоний. До проведения дезинфекции секторов «Пигбалия» в смывах, взятых с поверхности ограждающих конструкций, отмечено наличие кишечной палочки и стафилококков.

С целью изучения дезинфицирующих свойств вышеуказанного препарата по отношению к возбудителям трихофитии крупного рогатого скота нами дополнительно в СПК «Кишино-Слободской» Борисовского района Минской области, в животноводческих помещениях МТФ «Подберезье» после предварительной механической очистки проведена вынужденная аэрозольная дезинфекция 2-х телятников, где содержалось по 180 животных, общей площадью 1050 м² каждый, 10% раствором Сукцисана и 4%-ным раствором Глютара при норме расхода препаратов 10 мл/м³ и 20 мл/м³ соответственно в присутствии животных (возраст от 3 до 6 месяцев), экспозиция обеззараживания – 3 часа. Норма расхода дезинфектанта «Глютар» для проведения аэрозольной дезинфекции животноводческих помещений взята в соответствии с действующим наставлением по применению его в ветеринарии. Аэрозольная дезинфекция проводилась с использованием аэрозольного генератора - THERMFOG IGEBА Geraetebau GmbH D-87480 Weitnau Made in Germany.

После проведения аэрозольной дезинфекции Сукцисаном в присутствии животных в хозяйстве, неблагополучном по трихофитии крупного рогатого скота, её качество было оценено как «удовлетворительное» - в отобранных пробах стафилококков и возбудителей трихофитии крупного рогатого скота не выделено, отрицательного влияния препаратов на животных не выявлено.

В ходе исследований по испытанию эффективности Глютара и Сукцисана в качестве дезинфектантов при трихофитии крупного рогатого скота в СПК «Кишино-Слободской» на МТФ «Подберезье» в телятнике, где дезинфекцию проводили с использованием 4% р-ра Глютара, было отмечено появление трихофитозных очагов у трех животных, которых впоследствии пришлось подвергнуть лечению однохлористым йодом и противотрихофитийной вакциной производства УП «Витебская биофабрика». Среднесуточный прирост живой массы у здоровых телят в этот период наблюдения составлял 590 г, у больных – 340 г. Терапевтический эффект проявлялся на 28-30 день после второго введения и выражался в утончении, отторжении трихофитозных корочек и начале роста волоса. Среднесуточные привесы больных животных достигли уровня здоровых телят лишь к 28-му дню. В дальнейшем заболевания телят трихофитией в данных животноводческих помещениях не было отмечено.

Заключение. Препарат «Сукцисан», предназначенный для профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции животноводческих, птицеводческих и других помещений при инфекционных заболеваниях бактериальной, вирусной и грибковой этиологии, обладает выраженным бактерицидным и фунгицидным действием по отношению к возбудителям I и II-го классов устойчивости и грибов, в т.ч. возбудителей дерматофитозов сельскохозяйственных животных и аспергиллеза птиц, удобен в использовании (хорошо растворим в водопроводной воде, не требует использования стабилизаторов частиц аэрозоля), не вызывает изменений клинического состояния животных.

Литература. 1. Действие комбинированного дезинфектанта поверхностей (КДП) на возбудителей инфекций и особенности его применения для ветеринарной дезинфекции / А.П. Лысенко [и др.] / Ветеринарная медицина Беларуси. – 2001-2002. – №4-1. – С. 15-16. 2. Дудницкий, И.А. Новые дезинфицирующие средства / И.А. Дудницкий // Ветеринария. – 1997. – №5. – С. 24-26. 3. Карпович, Т.И. Текущая и профилактическая дезинфекция животноводческих объектов в присутствии животных всех возрастов / Т.И. Карпович, В.Н. Скибо // Ветеринарная медицина Беларуси. – 2002. – №3. – С. 21-22. 4. Кирпиченко, В.А. Практикум по ветеринарной дезинфекции: учеб. пособие / В.А. Кирпиченко, И.А. Ятусевич, В.У. Горидовец. – Минск: Ураджай, 2000.-197с. 5. Кузьмин, В.А. Дезинфекция в ветеринарии / В.А. Кузьмин, Н.А. Кавенькин, А.Л. Каравайчик // Практик. – 2002. – №9-10. – С. 98-104. 6. Левченко, П.И. Комплекс мер по борьбе с трихофитией кроликов на фермах промышленного типа : автореф. дис. ... канд. ветеринарных наук: 16.00.03 / П.И. Левченко. – Москва, 1987. – 23 с. 7. Петрович, С.В. Микозы животных / С.В. Петрович. – М.: Росагропромиздат, 1989. – 173 с. 8. Поляков, А.А. Дезинфекция при трихофитии / А.А. Поляков, Н.П. Тарабукина, И.Б. Павлова // Ветеринария. – 1987. – №3. – С. 33-34. 9. Селиверстов, В.В. Дезинфекция в системе ветеринарно-санитарных мероприятий / В.В. Селиверстов, И.А. Дудницкий // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2006. – №3. – С.16-22.

Статья передана в печать 16.08.2012 г.

УДК 619 : 579.834.115

КРИОКОНСЕРВАЦИЯ ЛЕПТОСПИР

*Зайцев В.В., *Усов Ю.П., **Дремач Г.Э.

*ГП «Витебская биофабрика»,

** Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины,
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Обзор посвящен проблемам сохранения жизнеспособности и стабильности биологических свойств лептоспирозных бактерий. Рассматриваются основные механизмы повреждения клеток при замораживании и оттаивании, роль криопротекторов и других факторов, влияющих на выживаемость лептоспирозных бактерий при криоконсервации. Приведены собственные данные об оптимальных режимах замораживания и оттаивания лептоспир.

The survey is about the safety and stability of leptospiral bacteria. Some cell damage mechanisms have been considered during refrigeration and thawing, role of cryoprotectants and some other factors affecting the riability of leptospiral bacteria. The autors results have been demonstrated on the optimal regimes of the refrigeration and thawing leptospirae.

Введение. Криоконсервация – совокупность методов хранения биологических объектов при низких температурах.

Основной принцип криобиологии заключается в том, что степень повреждения при замораживании зависит от количества свободной воды в биологической системе и способности этой воды кристаллизоваться в ходе замораживания [4].

Вода – главный компонент всех живых клеток и должна присутствовать в организме для протекания химических реакций. При замораживании микроорганизмов большинство воды превращается в лед, и клеточный метаболизм прекращается. Поэтому с точки зрения теоретической криобиологии процесс криоконсервации рассматривают как способ перевода клетки в состояние глубокого холодого анабиоза с последующим возвратом в исходное состояние.

Разработка методов и технологических приемов криоконсервации микробиологических объектов требует предварительной многоплановой исследовательской работы, связанной с изучением механизмов криозащиты и криповреждения клеток, установлением закономерностей, характеризующихся изменением физиолого-биологических свойств микроорганизмов после криоконсервации. Большинство повреждений клеток возникает на этапах замораживания – отогрева, их частота и интенсивность зависит от скоростей отвода и подвода тепла, скорости кристаллизации и рекристаллизации, характера действия изменяющихся концентраций солей и т.д.

В ходе замораживания вода, окружающая клетку, замерзает раньше, чем внутри клетки [7, 8]. Это происходит за счет того, что концентрация цитоплазмы выше, чем концентрация окружающей среды. Более того, термодинамически в пространствах с большим объектом быстрее формируются центры кристаллизации. В результате замерзания воды возрастает концентрация солей в оставшейся жидкой фазе. Таким образом, формируется концентрированный фактор, который действует как осмотический шок, в результате которого внутриклеточная вода выходит из клетки в более концентрированный окружающий раствор [9].

Одной из наиболее распространенных теорий, объясняющих гибель клеток при замораживании, является теория механического повреждения. Считается, что гибель клеток обусловлена воздействием на них крупных кристаллов льда, образующихся вне или внутри клеток при медленном охлаждении. Предполагается, что степень повреждения клеток снижается по мере увеличения охлаждения и уменьшения величины образующихся кристаллов. При этом наиболее благоприятными условиями считаются такие, при которых вода замерзает в витрифицированном состоянии, т.е. в виде аморфной стекловидной массы. Перевести воду, содержащуюся в биологическом материале, в витрифицированное состояние сложно, так как для сверхбыстрого охлаждения необходимо погружать небольшое количество материала непосредственно в охлаждающий агент с очень низкой температурой.

По мнению сторонников механической теории, повреждение клеток при замораживании, быстрое и сверхбыстрое охлаждение является наиболее благоприятным для сохранения их жизнеспособности [1].

На жизнеспособность микроорганизмов и сохранение их физиолого-биохимических свойств при замораживании могут оказывать влияние различные факторы. Наиболее значимые из них – скорость охлаждения и отогрева, использование криопротекторов.

Устойчивость микроорганизмов к низким температурам в ряде случаев зависит от концентрации клеток в суспензии микроорганизмов. Это связано с тем, что при возрастании количества клеток в суспензии уменьшается содержание внеклеточной воды [2].

Криоустойчивость зависит также от схожего морфофункционального состояния клеток, которое определяется фазой роста. Клетка в стационарной фазе роста обладает наиболее высокой устойчивостью [5].

В результате многочисленных исследований установлено, что не только для каждого вида, но и для штаммов одного и того же вида микроорганизмов необходимо в ряде случаев подбирать оптимальные скорости замораживания и отогрева. Для большинства микробных клеток показаны два оптимума на шкале скоростей охлаждения, при которых отмечается максимальная выживаемость клеток при замораживании. Один из них наблюдается в зоне медленных скоростей, второй – в зоне сверхбыстрых скоростей охлаждения [Simione, FrankP., 1998]. При высоких скоростях замораживания снижается влияние

концентрированных градиентов в результате короткого времени их действия. При низких скоростях замораживания клетка теряет большое количество воды, что приводит к минимизации эффекта образования внутриклеточных кристаллов льда [3].

Скорость отогрева не менее важна, чем скорость замораживания. Наиболее оптимальны для бактерий быстрые скорости отогрева, при которых удастся максимально избежать процесса рекристаллизации [2].

Таким образом, определение криоустойчивости лептоспир является одним из важных начальных этапов разработки оптимального способа их криоконсервации с гарантией сохранения полезных свойств в течение длительного времени.

Цель настоящих исследований – определение криоустойчивости лептоспирозных штаммов для оптимизации способов их хранения в замороженном состоянии.

Материал и методы исследований. В работе использовали следующие производственные штаммы лептоспир: *Leptospira Pomona* ВГНКИ-6; *Leptospira tarassovi* ВГНКИ-4.

Для культивирования лептоспир в опыте использовали следующие питательные среды: сывороточную среду (СС) и сывороточную модифицированную среду с фактором роста (ССФР). Модифицированную среду готовили путем добавления к буферному раствору 6% сыворотки барана и до 5% препарат БСТ.

С целью получения сыворотки кровь у баранов брали в стерильные бутылки вместимостью 3-5 дм³, увлажненные физиологическим раствором. После свертывания крови бутылки встряхивали для отделения кровяного сгустка от стенок и помещали для отстоя сыворотки на 24 часа при температуре 2-10⁰С. Отстоявшуюся сыворотку сливали в стерильные бутылки, которые помещали в водяную баню с температурой 57-58⁰С и прогревали при периодическом перемешивании в течение 30 минут.

Инактивированную сыворотку фильтровали через осветляющие и стерилизующие фильтры. Профильтрованную сыворотку проверяли на стерильность.

На основе приготовленной сыворотки в дальнейшем готовили соответствующие питательные среды.

Из одной пробирки с каждым штаммом лептоспир делали пересев в 4-5 пробирок, содержащих по 8-10 см³ питательной среды, внося в них по 0,5-1,0 см³ культуры. Накопление 80-100 млн.м.к. в см³ среды отмечалось через 7 суток культивирования при температуре 27-28⁰С.

Подвижность и морфологию лептоспир изучали в темном поле микроскопа при увеличении 40 x 7-10.

Производственные штаммы лептоспир, выращенные на питательных средах разного состава, контролировали на биологическую активность путем иммунизации кроликов и постановки РМА с гомологичной сывороткой.

Выращенные культуры замораживали при температуре -30⁰С (режим № 1), при температуре -60⁰С (режим № 2), в этаноле, предварительно охлажденном при -60⁰С (режим № 3). Замороженные культуры лептоспир хранили в течение 30 суток.

Размораживание проводили быстрыми способами: при +37⁰С в термостате (вариант А) и водяной бане (вариант В); медленным способом при +4⁰С (вариант Б) до полного оттаивания образца. После чего культуры лептоспир помещали на сутки при температуре 28⁰С.

Общее количество клеток в образцах подсчитывали под микроскопом до и после замораживания.

Жизнеспособность лептоспир определяли подсчетом числа выросших на плотной среде колоний из каждого образца до и после замораживания.

Результаты исследований. Для гарантии длительного сохранения жизнеспособности и свойств культур лептоспир необходимо было создать такие условия, которые обеспечивали бы оптимальную стабилизацию и замедление метаболических процессов в клетках.

Из результатов, сведенных в таблицах 1, 2, 3 и 4, видно, что способы замораживания и оттаивания оказывают влияние как на сохранение общего количества лептоспир, так и их процент жизнеспособности.

Таблица 31

Влияние режимов замораживания-оттаивания на криоустойчивость лептоспир *Pomona*, выращенных на сывороточной среде

Срок культивирования лептоспир, сутки	Кол-во лептоспир, млн/см ³	Кол-во жизнеспособных лептоспир, млн/см ³	Режим замораживания	Вариант оттаивания	Кол-во лептоспир после оттаивания	
					общее кол-во, млн/см ³	кол-во живых клеток, млн/см ³
7	92,0±2,4	66,2±1,2	1	А	9,4±0,5	3,6±0,3
				Б	8,6±0,4	3,5±0,3
				В	11,2±0,8	3,7±0,2
			2	А	13,6±0,6	4,1±0,4
				Б	12,1±0,7	3,6±0,4
				В	15,8±0,8	4,8±0,3
			3	А	16,6±1,0	4,9±0,4
				Б	14,6±1,0	4,3±0,4
				В	22,4±0,8	6,8±0,6
			1	А	10,8±0,6	4,2±0,4
				Б	10,2±0,5	4,0±0,3
				В	13,8±0,7	4,4±0,4

10	93,4±1,8	70,2±2,6	2	A	15,2±0,7	4,6±0,4
				Б	13,8±1,1	4,3±0,5
				В	18,7±1,3	6,0±0,5
			3	A	19,4±1,0	8,6±0,7
				Б	17,4±1,2	7,6±0,6
				В	26,3±1,4	10,3±0,7

При замораживании низкоконцентрированных культур лептоспир (табл. 31 и 32), выращенных на сывороточной среде, наиболее предпочтительно использовать режим № 3. При этом режиме замораживания в 7-дневных культурах *L. romona* и *L. tarassovi* сохраняется 17,4-25,3% микробных клеток, при этом из них 39-42% - жизнеспособных.

Таблица 32

Влияние режимов замораживания-оттаивания на криоустойчивость лептоспир *Tarassovi*, выращенных на сывороточной среде

Срок культивирования лептоспир, сутки	Кол-во лептоспир, млн/см ³	Кол-во жизнеспособных лептоспир, млн/см ³	Режим замораживания	Вариант оттаивания	Кол-во лептоспир после оттаивания	
					общее кол-во, млн/см ³	кол-во живых клеток, млн/см ³
7	93,2±2,8	69,2±1,4	1	A	9,6±0,6	3,8±0,3
				Б	8,2±0,4	3,1±0,2
				В	12,3±0,6	5,0±0,4
			2	A	14,1±0,8	5,2±0,4
				Б	12,6±0,7	4,7±0,3
				В	16,8±1,0	6,7±0,6
			3	A	18,3±1,0	7,3±0,6
				Б	16,3±1,0	6,4±0,5
				В	23,6±1,6	9,9±0,9
10	96,2±3,4	73,7±2,2	1	A	10,8±0,8	4,3±0,3
				Б	9,0±0,6	3,4±0,3
				В	14,1±0,8	5,7±0,5
			2	A	14,8±0,7	5,7±0,6
				Б	12,8±0,9	4,8±0,5
				В	18,3±1,0	7,4±0,6
			3	A	21,2±1,4	8,7±0,7
				Б	18,6±1,2	7,4±0,6
				В	26,8±1,8	11,8±1,0

В 10-суточной культуре, которая находилась уже в начальной стационарной фазе роста, эти показатели были несколько выше и составили соответственно 19,3-27,9% и 40-44%.

Наиболее низкие показатели сохранности клеток отмечались при замораживании культур лептоспир по режиму № 1. Так, у 7-суточных культур лептоспир сохранялось 8,8-13,2% общего количества клеток при их жизнеспособности 38-40%.

Следует особо отметить, что на криоустойчивость лептоспир оказывает влияние способ оттаивания. При всех вариантах замораживания медленное оттаивание (вариант Б) приводило к большему разрушению клеток лептоспир, чем быстрое (вариант В).

У культур лептоспир, замороженных по варианту № 1, при быстром оттаивании сохранялось около 13% клеток, при умеренном (вариант А) – около 10% и медленном (вариант Б) – около 8,8. Аналогичная тенденция просматривалась при оттаивании культур лептоспир, замороженных при режимах № 2 и № 3.

На результат криоконсервации может влиять концентрация клеток в суспензии микроорганизмов. Это связано с тем, что при возрастании количества клеток в суспензии уменьшается содержание внеклеточной воды.

Результаты замораживания и оттаивания концентрированных культур, выращенных на ССФР, сведены в таблицах 33 и 34.

Таблица 33

Влияние режимов замораживания-оттаивания на криоустойчивость лептоспир *Romona*, выращенных на модифицированной сывороточной среде

Срок культивирования лептоспир, сутки	Кол-во лептоспир, млн/см ³	Кол-во жизнеспособных лептоспир, млн/см ³	Режим замораживания	Вариант оттаивания	Кол-во лептоспир после оттаивания	
					общее кол-во, млн/см ³	кол-во живых клеток, млн/см ³
			1	A	78,6±2,0	18,9±2,2
				Б	71,1±1,6	14,2±0,6
				В	102,5±2,1	29,7±1,4

7	788,0±32,0	725,0±48,0	2	A	165,6±4,8	51,5±2,2
				B	126,5±3,5	30,4±1,2
				B	189,4±8,8	58,7±1,6
			3	A	181,4±10,2	70,8±1,8
				B	141,9±8,2	51,1±2,0
				B	157,8±12,4	78,9±1,6
10	862,4±43,0	784,0±52,0	1	A	95,2±4,4	26,7±1,8
				B	77,6±3,6	17,8±0,6
				B	121,2±5,8	40,1±2,0
			2	A	198,5±10,8	67,6±2,4
				B	146,7±8,6	42,6±2,2
				B	215,5±12,8	75,5±4,0
			3	A	224,4±15,0	96,6±4,2
				B	172,4±12,6	70,7±3,0
				B	276,2±15,6	154,8±5,6

Из данных таблиц 3 и 4 видно, что в целом криорезистентность лептоспир как в низкоконцентрированных, так и высококонцентрированных культурах при разных режимах замораживания и оттаивания схожа. Но эффект сохранности лептоспир в концентрированных культурах при быстром замораживании более ощутим.

Таблица 34

Влияние режимов замораживания-оттаивания на криоустойчивость лептоспир *Tarassovi*, выращенных на модифицированной сывороточной среде

Срок культивирования лептоспир, сутки	Кол-во лептоспир, млн/см ³	Кол-во жизнеспособных лептоспир, млн/см ³	Режим замораживания	Вариант оттаивания	Кол-во лептоспир после оттаивания	
					общее кол-во, млн/см ³	кол-во живых клеток, млн/см ³
7	846,0±48,0	778,0±52,0	1	A	89,7±3,2	20,7±0,4
				B	79,5±2,6	16,5±0,4
				B	108,4±4,8	31,2±0,6
			2	A	176,2±6,2	53,7±1,8
				B	134,7±5,4	33,2±0,5
				B	205,6±12,4	64,8±2,6
			3	A	199,2±10,8	78,4±3,6
				B	155,8±7,2	56,6±1,8
				B	174,3±4,8	88,2±3,2
10	912,0±58,0	820,0±66,0	1	A	96,7±2,6	26,6±0,5
				B	83,9±2,8	18,7±0,3
				B	132,3±4,4	44,4±1,2
			2	A	217,1±10,6	74,5±2,0
				B	152,4±4,4	45,2±0,8
				B	224,4±12,8	79,4±1,8
			3	A	242,7±14,8	107,3±4,6
				B	188,8±12,2	76,1±1,4
				B	288,2±15,4	165,2±5,6

Закключение. Несмотря на некоторые отличия в результатах исследований, проверенные нами штаммы лептоспир обладают достаточно низкой криорезистентностью. Для криоконсервации лептоспир необходимо подобрать криопротектор, замораживание проводить в этаноле, охлажденном до -60°C, а оттаивание – быстрым способом в водяной бане при температуре воды +37°C.

Литература. 1. Бланков, Б.И. Применение лиофилизации в микробиологии / Б.И. Бланков, Д.Л. Клебанов. – М.: Медгиз, 1961. – 263 с. 2. Криобиология и биотехнология / А.А. Цуцаева [и др.]; под общ. ред. А.А. Цуцаевой. – Киев: Наук. думка, 1987. – 165 с. 3. A two factor hypothesis of freezing injury / P. Mazur [et al] // *Experimental Cell Research*. – 1972. – Vol. 71. – P. 345-355. 4. Cryopreservation manual: a guide to cryopreservation techniques / G.M. Kelvin – Brockbank; Thermo Electron Corporation, 2004. – 25 p. 5. Heckly, R.J. Preservation of microorganisms / R.J. Heckly // *Advances in Applied Microbiology*. – 1978. – Vol. 24. – P. 1-53. 6. Hubalek, Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms / Z. Hubalek // *Cryobiology*. – 2003. – Vol. 46. – P. 205-229. 7. Farrant, J. General observations on cell preservation / J. Farrant // *Low Temperature Preservation in Medicine and Biology*, Pitman Medical Limited, Kent, England. – 1980. – P. 1-18. 8. Mazur, P. *Cryobiology: the freezing of biological systems* / P. Mazur // *Science*. – 1970. - № 168. – P. 939-949. 9. Pegg, David E. Long-term preservation of cells and tissues a review / David E. Pegg // *J. Clin. Path.* – 1976. – Vol. 29. – P. 271-285. 10. Simione, Frank P. *Cryopreservation manual* / Frank P. Simione. – American Type Culture Collection (ATCC) in cooperation with Nunc International Corp. – 1998. – 8 p.

Статья передана в печать 05.09.2012 г.

РЕГИДРАЦИЯ СУХИХ КУЛЬТУР ДЕРМАТОФИТОВ

Зайцева В.В.

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

Установлена зависимость жизнеспособности микроконидий дерматофитов от состава используемого растворителя. Предложены стандартные по составу растворители, позволяющие сохранить высокую жизнеспособность микроконидий дерматофитов при регидратации сухих препаратов.

The dependence of the viability of dermatophytes microconidia on the composition of the solvent used to offer a standard solution composition, allowing to maintain high viability of dermatophytes microconidia when rehydrated dry preparations.

Введение. Одним из важнейших при производстве и применении сухих вакцин является вопрос восстановления в высушенном материале максимального количества жизнеспособных клеток, сохранившихся в культуре после процесса лиофилизации. Поэтому возникает необходимость подбора оптимальных условий регидратации, которые будут способствовать процессу восстановления жизнеспособности клеток или спор.

Наиболее чувствительны к понижению температуры биомембраны клеток. Ряд последовательных нарушений ее структуры приводит к образованию дефектных зон в мембране, изменению ее проницаемости и объема, проявлению ряда биохимических реакций, вызывающих качественные изменения фосфолипидов и белков. Однако, несмотря на сложность и глубину криповреждений, клетка способна довольно хорошо восстанавливаться за счет систем репарации и самосборки структурных компонентов в предшествующие комплексы и системы, обеспечивая их функционирование [5, 10].

Восстановление жизнедеятельности клеток на различных этапах процесса изготовления сухих биопрепаратов, в частности, при подготовке биомассы к сублимационному высушиванию, замораживанию, также при регидратации действует целый ряд других повреждающих факторов: осмотическое сжатие клеток, скорость и глубина замораживания, образование кристаллов льда, концентрирование компонентов защитной среды и продуктов лизиса поврежденных клеток в незамерзшей фазе и пребывание клеток в доэвтектической зоне температур [6].

Важное значение имеет скорость обезвоживания, состав, осмолярность и температура регидратирующего раствора [2, 7, 10].

Период восстановления лиофилизированных культур характеризуется устранением всех деструктивных изменений, реставрацией поврежденных при обезвоживании структур, отторжением и лизисом необратимо инактивированных участков, восстановлением деятельности ферментных систем.

Для быстрого восстановления всех жизненных функций клеток большое значение имеет выбор оптимальных условий, при этом решающую роль играют состав растворителя, его температура и время экспозиции перед высевом на контрольную питательную среду. При удачном выборе этих условий выход жизнеспособных микроорганизмов в отдельных случаях увеличивается в десятки раз [5].

Современный подход к повышению эффективности применения сухих живых вакцин основан на разработке и использовании специальных растворителей, обеспечивающих лучшее восстановление микроорганизмов из высушенного состояния в процессе регидратации.

Поскольку в разведенных суспензиях клетки легко подвергаются вредным воздействиям со стороны неблагоприятной для них среды, состав растворителей необходимо предварительно подбирать и оптимизировать. В качестве растворителя, как правило, нельзя использовать дистиллированную или водопроводную воду, так как она гипотонична по отношению ко всем бактериальным клеткам, за исключением покоящихся спор, и не обладает буферными свойствами. Также не подходит для разведения физиологический раствор и фосфатный буфер, поскольку они обладают малой буферной емкостью и изотоничны только по отношению к клеткам млекопитающих. При разведении такими растворами жизнеспособность может упасть на 50% и более [3].

Мировая практика производства сухих вакцин свидетельствует, что подавляющее большинство их выпускается зарубежными фирмами в комплекте с соответствующими растворителями, состав которых не расширяется.

Согласно имеющимся литературным данным, в исследованиях по испытанию в качестве растворителя для сухих бактериальных вакцин используют как простые, так и сложные многокомпонентные системы, включающие молоко и сыворотку крови крупного рогатого скота, глицерин и пептон [8], физиологический раствор и мясопептонный бульон. Однако указанные растворители имеют целый ряд недостатков: использование для их изготовления дорогостоящего пищевого сырья, не стандартного по составу, из дефицитных компонентов; молоко и сыворотка крови обладают антигенностью и могут вызывать неспецифические иммунные реакции. Поэтому они не нашли своего применения в производстве.

Ярцев М.Я. (1990) установил низкую жизнеспособность микроорганизмов в сухих вакцинах против пастереллеза птиц и рожи свиней при регидратации физиологическим раствором, что послужило основанием испытания растворителя, представляющего 0,5%-ный раствор пептона на сложном калий-фосфатном буферном растворе с рН 7,2-7,5 [11].

В настоящее время в Республике Беларусь для регидратации сухих вакцин против дерматофитозов не выпускаются специальные растворители, а используется стерильный физиологический раствор.

Целью настоящих исследований являлось изучение и подбор среды для регидратации сухих культур дерматофитов, обеспечивающих максимальный выход жизнеспособных микроконидий гриба в процессе реактивации.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили в ГП «Витебская биофабрика» и РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

В работе использовали культуры производственных штаммов гриба *Trichophyton verrucosum* ТФ-130, *Trichophyton verrucosum* № 11183, *Trichophyton mentagrophytes*.

Для изготовления питательной среды и выращивания грибов использовали сусло. Солод для получения сусла готовили из зерна, обработанного препаратами Флоравит, Фузарин, Бионорм В и водопроводной водой.

Эффект от использования стимуляторов состоит в повышении выхода целевого продукта, экстрактивности и сокращении солодоращения.

Культуру грибов выращивали на сусло-агаре при температуре 26-28°C. Далее культуру снимали скребком и ресуспендировали в 100 см³ специального растворителя, гомогенизировали в течение 12 минут при 3-5 тыс. об/мин. В культуре определяли общее количество микроконидий и их жизнеспособность. После чего смешивали гомогенат гриба и защитную среду в соотношении 4:1. Смесь культуры и среды фасовали по 5 см³ в стерильные флаконы емкостью 10 см³.

Фасовали вакцину с помощью дозирующего устройства «Контур П4». Флаконы с вакциной помещали в морозильную камеру, охлажденную до -40°C, на 16-24 часа. Сублимацию культур грибов осуществляли по ранее разработанной схеме.

Нами для испытания были приготовлены 8 вариантов растворителя для сухой вакцины против дерматофитов.

Вариант 1. Готовили путем смешивания 1,0%-ного раствора липополисахаридпептидной фракции (ЛПС-Ф) о-антигена бактерий рода *Salmonella* (получали по разработанному нами методу) [9], натрия хлорида (НХ), экстракта дрожжей (ЭД) в следующем соотношении, вес. %:

1,0%-ный раствор ЛПС-Ф о-антигена бактерий *Salmonella dublin* - 20,0; НХ - 0,5; ЭД - 0,1; вода – остальное.

Вариант 2. 1,0%-ный раствор ЛПС-Ф о-антигена бактерий *Salmonella dublin* - 10,0; НХ - 1,0; ЭД - 0,9; вода – остальное

Вариант 3. 1,0%-ный раствор ЛПС-Ф о-антигена бактерий *Salmonella dublin* - 8,0; НХ - 0,4; ЭД - 0,08; вода – остальное.

Вариант 4. 1,0%-ный раствор ЛПС-Ф о-антигена *Salmonella dublin* - 10,0; НХ - 0,5; ЭД - 0,1; вода – остальное.

Вариант 5. 1,0%-ный раствор ЛПС-Ф о-антигена *E. coli* O₉ - 20,0; НХ - 0,5; ЭД - 0,1; вода – остальное.

Вариант 6. 1,0%-ный раствор ЛПС-Ф о-антигена *E. coli* O₉ - 22,0; НХ - 1,0; ЭД - 1,2; вода - остальное.

Вариант 7. 1,0%-ный раствор ЛПС-Ф о-антигена бактерий *Salmonella dublin* - 16,0; НХ - 0,6; ЭД - 0,5; вода – остальное.

Вариант 8. Натрия хлорид - 0,85; вода – остальное.

Использовали в опыте следующую рецептуру защитной среды: сухое молоко – 8,0 %; желатин – 1,0 %; защитная композиция – остальное. Защитную композицию готовили путем смешивания ингредиентов в следующем соотношении, масс. %: трилон Б – 1,4; сахароза – 33; вода – остальное. Защитную среду и суспензию гриба смешивали в соотношении 1:4.

Общее количество микроконидий и их жизнеспособность определяли после окончания сушки, через 6 и 12 месяцев хранения.

Для определения общего количества микроконидий культуру гриба разводили в 10 раз стерильным физиологическим раствором. Разведенной культурой заряжали две камеры Горяева и подсчитывали количество микроконидий. При этом содержание макроконидий и грибных элементов не учитывали. Подсчет вели в каждой сетке в пяти квадратах (четыре по углам и один в центре или в пяти квадратах, расположенных по диагонали сетки).

Расчет количества микроконидий, содержащихся в пробе, рассчитывали по формуле 1:

$$K = \frac{П + В}{2} \times \rho \times 10^4 \times 5 \quad (1)$$

где К - количество микроконидий в 1 см³ испытуемой культуры;

П - количество микроконидий в пяти квадратах первой сетки;

В – количество микроконидий в пяти квадратах второй сетки;

Р – разведение исходной культуры.

Культуры проверяли на наличие контаминаций. Для этого брали пробу культуры и делали высев на две пробирки с МПА, МПБ, средами Китта-Тароцци и Сабуро. Посевы со средой Сабуро инкубировали при температуре 26-28°C, а на остальных средах при 37°C в течение 10 суток.

Для определения количества жизнеспособных микроконидий готовили разведения вакцины и высевали на сусло-агар. Посевы вакцины инкубировали в термостате при температуре 26-28°C в течение 8-9 суток и проводили визуальный подсчет колоний.

Для определения количества жизнеспособных микроконидий предварительно в шесть пробирок помещали по 4,5 см³ одного из испытуемых растворителей. Пипеткой брали 0,5 см³ суспензии культуры и вносили в первую пробирку, перемешивали содержимое пробирки и новой пипеткой брали 0,5 см³ и переносили во вторую пробирку и т.д., то есть готовили разведения от 10⁻¹ до 10⁻⁶.

Из разведения вакцины 10⁻⁶ пипеткой набирали 0,5 см³ суспензии гриба и засеивали в каждую из трех чашек Петри с сусло-агаром. Легким покачиванием чашки равномерно распределяли суспензию гриба по поверхности питательной среды. Засеянные чашки помещали в термостат при температуре 26-28°C на 10 суток.

Количество выросших колоний подсчитывали на 10 сутки визуально. Суммировали выросшие колонии в трех чашках Петри. Полученную сумму делили на 3 и умножали на 10⁶ (степень разведения), полученный результат соответствует количеству жизнеспособных микроконидий в см³ гомогената гриба.

Влияние температуры растворителя и времени экспозиции в нем культур на жизнеспособность микроконидий изучали при температуре испытуемых растворителей 10°C, 15°C, 20°C, 25°C и 30°C в течение 1, 30, 60 и 120 минут.

Массовую долю влаги в вакцине определяли по ГОСТ 24061-89.

Результаты исследований. Разнообразие механизмов повреждения клеток при выведении их из состояния анабиоза объясняется как природой микроорганизмов, так и множеством повреждающих факторов, особенно на стадии регидратации, когда вследствие нарушения барьерных функций клеточных мембран ценные компоненты клетки выходят в окружающую среду, а вода проникает внутрь клетки. Паранекроз и липофенероз при регидратации также могут привести их к гибели [1].

Период восстановления лиофилизированных культур характеризуется устранением всех деструктивных изменений, реставрацией поврежденных при обезвоживании структур, отторжением и лизисом необратимо инактивированных участков, восстановлением деятельности ферментных систем.

Для быстрого восстановления всех жизненных функций клеток микроорганизмов большое значение имеет выбор оптимальных условий. Решающую роль играет состав растворителя, его температура и время экспозиции перед высевом на контрольную питательную среду. При удачном выборе этих условий выход жизнеспособных микроорганизмов в отдельных случаях увеличивается в несколько раз [5].

Современный подход к повышению эффективности применения сухих вакцин также направлен на разработку и использование специальных растворителей.

После ресуспендирования сухих образцов культур дерматофитов разными растворителями была прежде всего установлена чистота и типичность роста культур.

Проведенные исследования показали, что жизнеспособность микроконидий, высушенных в оптимизированной нами защитной среде, при выведении их из состояния анабиоза в значительной степени зависит от состава применяемого для этой цели растворителя.

Данные по изучению влияния состава растворителя на восстановление жизнеспособности дерматофитов приведены в таблице 35.

Таблица 35

Влияние состава растворителя на восстановление жизнеспособности дерматофитов

№ серии	Состав растворителя	Количество живых микроконидий в см ³ вакцины					
		при изготовлении		через 6 мес. к исходной		через 12 мес. к исходной	
		млн/см ³	%	млн/см ³	%	млн/см ³	%
1	№ 1	237,0±1,5	100,0	232,0±2,0	97,9	226,0±1,0	95,4
2							
3							
1	№ 2	221,0±2,5	100,0	213,7±1,5	96,7	207,7±1,5	94,0
2							
3							
1	№ 3	233,0±2,0	100,0	220,7±3,0	94,7	214,0±2,0	91,8
2							
3							
1	№ 4	222,3±2,0	100,0	154,0±3,0	69,3	129,3±2,5	58,2
2							
3							
1	№ 5	228,7±1,5	100,0	218,3±1,5	95,5	212,6±1,5	93,0
2							
3							
1	№ 6	238,0±2,0	100,0	203,7±2,5	85,6	193,0±2,5	81,0
2							
3							
1	№ 7	222,7±2,0	100,0	214,0±1,5	96,1	211,7±2,5	95,0
2							
3							

1	№ 8						
2	физиологический	232,6±2,0	100,0	176,7±2,5	76,0	156,3±2,5	67,2
3	раствор (контроль)						

Из результатов, сведенных в таблице 1, видно, что состав растворителя оказывает существенное влияние на восстановление исходной жизнеспособности. При этом видно, что достоверная разница отмечается уже через 6 месяцев хранения образцов культур грибов.

Для практических целей наиболее предпочтительно использовать растворитель, приготовленный по вариантам № 1, 2, 5 и 7, так в образцах культур грибов даже через 12 месяцев они способствуют восстановлению жизнеспособности у 93-95 % микроконидий. Применяемый в настоящее время физиологический раствор для регидратации сухой живой вакцины против трихофитии восстанавливает через 12 месяцев хранения жизнеспособность только у 67,2 % микроконидий.

Это указывает на то, что влияние состава растворителя на жизнеспособность микроорганизмов при выведении их из состояния анабиоза следует изучать для каждого конкретного вида микроорганизмов и штамма.

Результаты исследований по изучению влияния температуры и времени экспозиции в растворителях приведены в таблице 36.

Таблица 36

**Влияние температуры и время экспозиции на жизнеспособность микроконидий
Tr. verrucosum ТФ-130**

Температура растворителя, °С	Время экспозиции в растворителе, мин.	Состав растворителя		
		Физиологический раствор	Вариант 1	Вариант 7
		Выживаемость микроконидий к исходному, %		
10	на момент растворения	60,9	93,2	94,3
	30	58,4	90,1	90,8
	60	52,2	88,8	90,2
	120	50,6	87,4	88,7
15	на момент растворения	65,6	93,6	94,5
	30	64,2	93,2	94,2
	60	59,2	92,6	93,8
	120	57,8	92,2	93,5
20	на момент растворения	67,2	94,0	95,0
	30	64,5	94,2	94,6
	60	60,3	94,2	94,2
	120	59,4	94,5	94,6
25	на момент растворения	67,5	94,3	95,5
	30	66,6	94,6	95,8
	60	62,4	94,8	96,4
	120	62,3	95,4	96,4
30	на момент растворения	67,3	94,4	95,7
	30	66,5	94,8	96,2
	60	62,6	95,2	96,4
	120	62,2	95,6	96,6

Как видно из данных, помещенных в таблице 2, жизнеспособность микроконидий, ресуспендированных в растворителе 1 и 7, не зависит от температуры растворителя и длительности выдерживания конидий в нем перед высевом на питательную среду. При ресуспендировании конидий в физиологическом растворе при температуре 10°С и времени инкубации 60-120 минут отмечается некоторое снижение их жизнеспособности, особенно относительно его температуры 25-30°С.

Заключение. В ходе проведенных исследований нами установлено, что жизнеспособность микроконидий дерматофитов при выведении их из состояния анабиоза зависит от состава растворителя. С этой целью целесообразно использовать растворитель, приготовленный по вариантам № 1 и № 7.

Выводы. 1. Жизнеспособность микроконидий дерматофитов при выведении из состояния анабиоза зависит от состава растворителя. 2. Разработаны эффективные, стандартные по составу растворители, обеспечивающие высокую выживаемость микроконидий дерматофитов в процессе регидратации, независимо от температуры и времени экспозиции в нем.

Литература. 1. Беккер, М.Е. Анабиоз микроорганизмов / М.Е. Беккер. – Рига: Зинатне, 1981. – С. 27-32. 2. Белоус, А.М. Научные основы технологии сублимационного консервирования / А.М. Белоус, Ц.Д. Цветков. – Киев: Наукова Думка, 1985. – С. 208. 3. Герхардт, Ф. Растворы для разведения и изменения биомассы // Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхардта и др.: Пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – Т. 3. – С. 231-238. 4. Дубров, И.С. Зависимость биологической устойчивости вакцины в аэрозоле от состава регидранта / И.С. Дубров, Г.Д. Ищенко, А.А. Матрос // Ветеринария. – 1984. - № 5. – С. 32-34. 5. Заболотных, М.В. Факторы, влияющие на жизнеспособность и свойства коринебактерий при лиофилизации и длительном хранении / М.В. Заболотных, А.В. Заболотных // Материалы Всесоюзной научно-практической конференции патологоанатомов ветеринарной медицины. – Омск, 2000. – С. 79-80. 6. Звягин, И.В. Методические рекомендации по разработке режимов замораживания-высушивания биологических препаратов / И.В. Звягин. – М., 1981. – С. 33. 7. Пушкарь, Н.С. Теория и практика криоэнного и сублимационного консервирования / Н.С. Пушкарь, А.М. Белоус, Ц.Д. Цветков. – Киев: Наукова Думка, 1984. – С. 264. 8. Рубченков, П.Н. Выживаемость пастерелл штамма К после регидратации и в

аэрозольном состоянии / П.Н. Рубченко // *Ветеринария*. – 1986. - № 1. – С. 38. 9. Способ получения препарата для иммунокоррекции из сальмонеллезных бактерий : пат. 11671 Респ. Беларусь, МПК⁶ А 61К 35/66 / Зайцева А.В., Дремач Г.Э., Вербицкий А.А., Зайцева В.В.; заявитель УО ВГАВМ - № а 20070348 ; заявл. 04.04.07 ; опубл. 28.02.09 // *Афіцыйны бюл. / Нац. Цэнтр інтэлектуал. Уласнасці*. – 2009. - № 1. – С. 56. 10. Ураков, Н.Н. Функциональное состояние микроорганизмов в процессе приготовления бактериальных препаратов / Н.Н. Ураков, В.Я. Волков, Р.Б. Боровик // *Биотехнология*. – 1988. – Т. 4, № 4. – С. 420-432. 11. Ярцев, М.Я. Разработка технологии производства живых сухих вакцин против пастереллеза птиц, рожи свиней и бруцеллеза животных (экспериментальные исследования и внедрения) / М.Я. Ярцев. – Дисс. ... докт. биол. наук. – М., 1990. – С. 316.

Статья передана в печать 05.09.2012 г.

УДК 619:616.594

ОПТИМИЗАЦИЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ДЕРМАТОФИТОВ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ РАЗНОГО СОСТАВА

Зайцева В.В., Красочко И.А.

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

Предложен оптимизированный состав растворителя для подготовки посевного материала гриба трихофитон, позволяющий повысить выход целевого продукта в 1,65-1,87 раз.

We propose to optimize the composition of the solvent for the preparation of seed fungus Trichophyton, which increases the yield of the desired product 1,65-1,87 times.

Введение. Основным элементом создания эффективной биотехнологической системы является питательная среда для оптимального биосинтеза целевого продукта, а важнейшая стадия ее формирования – разработка способа выращивания микроорганизмов и их аппаратурно-техническое обеспечение [7, 8].

Среды должны быть по возможности воспроизводимыми и свободными от балластных веществ, ненужных для роста и размножения культур, а также веществ, затрудняющих процесс дальнейшей очистки и консервации препаратов.

Тест питательной потребности играет определенную роль при определении вида гриба, хотя и не отражает истинное питание дерматофитов в природных условиях в стадии сапрофитного роста.

Значение этого теста усиливается в связи с промышленным производством живых грибных вакцин, когда получение биомассы вакцинного штамма производится в стерильных условиях на питательных средах [1, 2, 5].

Как отмечают некоторые исследователи [3, 4], микроконидии дерматофитов полноценны в генетическом отношении, а полное отсутствие антагонистов – выращивание культуры в стерильных условиях на питательных средах – дает возможность проявляться изменчивости бесконечно.

Признак спорообразования, являющийся количественным, легко изменяется под воздействием внешних условий. Метод селекции штаммов дерматофитов по признаку спорообразования включает этапы:

- 1) приготовление разведений селекционируемой культуры с целью получения на чашках Петри отдельно выросших колоний;
- 2) перенос отдельно выросших колоний в отдельную пробирку с сусло-агаром;
- 3) доращивание культур до 20- дневного возраста;
- 4) приготовление смывов моноизолятов;
- 5) подсчет конидий в смывах, выбор наиболее продуктивных смывов;
- 6) высев взвесью продуктивного смыва – приготовление матричной культуры [3].

Жизнеспособность микроконидий, т.е. способность прорасти, не менее, чем интенсивность спорообразования, относится к категории основных качеств живой грибной вакцины.

Известны способы выращивания дерматофитов на разных агаризованных средах: сусло-агар, агар Чапека, агар Сабуро, агар Плаута, мясо-пептонный агар и агар с крахмалом [6].

Следует отметить, что известные способы выращивания дерматофитов не обеспечивают высокого выхода микроконидий дерматофитов, поэтому остается актуальной задачей поиск наиболее эффективных питательных основ и стимуляторов роста грибов.

Цель исследований – оптимизировать выращивание гриба трихофитона на питательных средах.

Материалы и методы. Использовали культуры: *Trichophyton verrucosum* ТФ-130 и *Trichophyton mentagrophytes*.

Для изготовления питательной среды и выращивания грибов использовали сусло-агар. Солод для получения сусла готовили из зерна, обработанного препаратами Флоравит, Фузарин, Бионорм В и водопроводной водой.

Эффект от использования стимуляторов состоит в повышении выхода целевого продукта, экстрактивности, его ферментативной активности и сокращении солодоращения.

Неохмеленное сусло готовили из мелкоизмельченного сухого солода. Для этого 2 кг солода ресуспендировали в 10 литрах очищенной воды. Температуру смеси доводили до 54°C и инкубировали далее в течение 20 минут (белковая пауза). Далее температуру смеси доводили до 63°C (за 1 мин

температура смеси должна повышаться на 1°C) и выдерживали при этой температуре 30 минут (мальтозная пауза).

Затем температуру смеси доводили до 70°C (за 1 минуту температура смеси должна повышаться на 1 °C) и выдерживали при этой температуре 1 час (осахаривание). После этого сусло выстаивали при комнатной температуре в течение 30 минут. Фильтрованное сусло прогревали при температуре 92-95°C в течение 40-60 мин. Перед изготовлением среды проводили контроль сусла.

Если произошло осахаривание, то сусло со спиртовым раствором йода давало желтое окрашивание, если осахаривание не произошло – синее.

Кислотное число по Тернеру определяли путем титрования 0,1н натрием гидроксидом.

Кислотное число (Kг) вычисляли по формуле 1:

$$Kr = \frac{a \times 5,61}{\delta} \quad (1)$$

где а – количество (см³) раствора едкого натрия, израсходованное на титрование сусла;

δ – количество исследуемого раствора, взятое для анализа в (см³);

5,61 – количество миллиграммов натрия гидроокиси, соответствующее 1 см³ 0,1н раствора натрия гидроокиси.

Определение рН сусла и среды проводили потенциометрически в соответствии с прилагаемыми к нему правилами. Содержание углеводов по Баллингу проводили с помощью сахарометра, в соответствии с правилами, прилагаемыми к рН-метру.

Для приготовления сусло-агара пивное сусло разводили очищенной водой до содержания 7-8° углеводов по Баллингу, заливали в варочный котел, рН устанавливали до его значения 7,8-8,1, добавлением 4%-ого раствора гидроокиси натрия. После чего добавляли предварительно замоченный агар микробиологический (ГОСТ 17206-84) до 2,2-3,0%.

Смесь кипятили до полного растворения агара, фильтровали через капроновое сито № 27-29, разливали в стерильные плоские стеклянные емкости по 300 см³, флаконы по 100 см³ и пробирки по 8-10 см³. Емкости закрывали ватно-марлевыми пробками и стерилизовали путем автоклавирования в течение 40 мин при температуре 116-118°C. После стерилизации рН среды составил 6,6-6,7.

Культуру грибов выращивали на сусло-агаре при температуре 26-28°C. Далее культуру снимали скребком и ресуспендировали в 100 см³ специального растворителя, гомогенизировали в течение 12 минут при 3-5 тыс. об/мин.

В культуре определяли общее количество микрোকонидий и их жизнеспособность. После чего смешивали гомогенат гриба и защитную среду в соотношении 4:1.

Контрольную питательную среду готовили путем включения в сусло-агар, содержащий сахаров 7° по Баллингу, 5 % нормальной сыворотки крови. Сыворотку добавляли в стерильный, расплавленный и охлажденный до 45°C сусло-агар и после перемешивания разливали в стерильные чашки Петри слоем 3-4 мм.

Среду для опытов готовили таким же образом, но сыворотку из ее состава исключали.

Для постановки контроля грибную суспензию ресуспендировали в физиологическом растворе до 100 млн. микрোকонидий в см³. Посев производили из расчета 1,5 млн. спор на 1 см³/среды.

Для постановки опыта готовили следующие варианты разбавителя:

№ 1 – экстракт дрожжевой - 0,8 %; сыворотка крови - 3,0 %; 0,1 % раствор натрия хлорид - до 100,0 %.

№ 2 – экстракт дрожжевой - 0,5 %; сыворотка крови - 5,0 %; 0,1 % раствор натрия хлорид - до 100,0 %.

№ 3– экстракт дрожжевой - 0,8 %; сыворотка крови - 6,0 %; 0,1 % раствор натрия хлорид - до 100,0 %.

№ 4– экстракт дрожжевой - 0,8 %; гидролизат белков крови - до 100 %.

№ 5– экстракт дрожжевой - 0,2 %; сыворотка крови - 2,0 %; 0,1 % раствор натрия хлорид - до 100,0 %.

№ 6– экстракт дрожжевой - 0,9 %; сыворотка крови - 7,0 %; 0,1 % раствор натрия хлорид - до 100,0 %.

Для решения поставленной цели специальным скребком снимали грибную массу с поверхности сусло-агара. Грибную массу, снятую с каждой в отдельности поверхности среды, ресуспендировали в гомогенизаторе с одним из разбавителей, до содержания 100 млн/см³ спор. Посев проводили из расчета 1,5 млн. спор/см³ среды. Емкости, засеянные разным посевным материалом гриба, инкубировали в термостате при температуре 28°C в течение 12 суток. Выращенные культуры гриба снимали с поверхности среды, ресуспендировали в соответствующих разбавителях.

Общее количество микрোকонидий определяли в пробе после разведения ее в 10 раз стерильным физиологическим раствором. Разведенной культурой заряжали две камеры Горяева и подсчитывали количество микрোকонидий. При этом содержание макроконидий и грибных элементов не учитывали. Подсчет вели в каждой сетке в пяти квадратах (четыре по углам и один в центре или в пяти квадратах, расположенных по диагонали сетки).

Расчет количества микрোকонидий содержащихся в пробе, рассчитывали по формуле 2:

$$K = \frac{\Pi + B}{2} \times \rho \times 10^4 \times 5 \quad (2)$$

где К - количество микрোকонидий в 1 см³ испытуемой культуры;

Π - количество микрোকонидий в пяти квадратах первой сетки;

В – количество микрোকонидий в пяти квадратах второй сетки;

Р – разведение исходной культуры.

Для определения количества жизнеспособных микроконидий готовили разведения вакцины и высевали на сусло-агар. Посевы вакцины инкубировали в термостате при температуре 26-28°C в течение 8-9 суток и проводили визуальный подсчет колоний.

Для определения количества жизнеспособных микроконидий предварительно в шесть пробирок помещали по 4,5 см³ одного из испытуемых растворителей. Пипеткой брали 0,5 см³ суспензии культуры и вносили в первую пробирку, перемешивали содержимое пробирки и новой пипеткой брали 0,5 см³, переносили во вторую пробирку и т.д., то есть готовили разведения от 10⁻¹ до 10⁻⁶.

Из разведения вакцины 10⁻⁶ пипеткой набирали 0,5 см³ суспензии гриба и засеивали в каждую из трех чашек Петри с сусло-агаром. Легким покачиванием чашки равномерно распределяли суспензию гриба по поверхности питательной среды. Засеянные чашки помещали в термостат при температуре 26-28°C на 10 суток.

Количество выросших колоний подсчитывали на 10 сутки визуально. Суммировали выросшие колонии в трех чашках Петри. Полученную сумму делили на 3 и умножали на 10⁶ (степень разведения). Полученный результат соответствует количеству жизнеспособных микроконидий в см³ гомогената гриба.

Концентрацию сухого мицелия определяли методом высушивания по ГОСТ 24060-89.

Результаты исследований. Нами выявлена зависимость мицелие- и спорообразования у дерматофитов от состава разбавителя посевного материала. Результаты исследований отражены в таблицах 37 и 38.

Таблица 37

Влияние состава питательной среды на рост мицелия гриба

Штамм гриба	Наименование компонента, включенного в разбавитель	Концентрация компонента, %	Концентрация сухого мицелия, млн/см ³ среды	Индекс Мицелиеобразования, %	Содержание Микроконидий, млн/мг сухого мицелия
1	2	3	4	5	6
Trichophyton verrucosum ТФ-130	Натрия хлорид (НХ)	0,1	9,2	150,8	18,1
	Сыворотка крови (СК)	3,0			
	Экстракт дрожжей (ЭД)	0,8			
	НХ	0,12	9,1	149,2	18,9
	СК	5,0			
	ЭД	0,5			
	НХ	0,1	9,1	149,2	19,9
	СК	6,0			
	ЭД	0,8			
	НХ	0,1	9,0	147,5	19,6
	ЭД	0,8			
	Гидролизат белков крови (ГБК)	96,2			
	НХ	0,1	5,1	83,6	16,1
	СК	2,0			
	ЭД	0,2			
	НХ	0,1	6,1	101,2	16,7
	СК	7,0			
ЭД	0,9				
НХ	0,85	6,1	100,0	16,5	
СК	-				
ЭД (контроль)	-				
Trichophyton mentagrophytes	НХ	0,1	8,1	155,8	18,9
	СК	3,0			
	ЭД	0,8			
	НХ	0,12	9,0	173,1	20,2
	СК	5,0			
	ЭД	0,5			
	НХ	0,1	9,2	176,9	18,4
	СК	6,0			
	ЭД	0,8			
	НХ	0,1	9,2	176,9	18,4
	ЭД	0,8			
	ГБК	96,2			
	НХ	0,1	5,1	98,1	15,9
	СК	2,0			
	ЭД	0,2			
	НХ	0,85	5,2	100,0	17,8
	СК	-			
ЭД (контроль)	-				

Из данных таблицы 1 видно, что при снижении концентрации сыворотки до 2,0 % и увеличении до 7,0 % в составе разбавителя соответственно индекс мицелиеобразования составляет для гриба *Tr. verrucosum* ТФ-130 83,6 % и 101,2 %, а индекс спорообразования 81,5 % и 101,2 %.

Схожие результаты были получены при культивировании культуры гриба *Tr. mentagrophytes*.

Сыворотка в концентрации 3,0-6,0 % стимулирует у всех исследованных штаммов грибов как рост мицелия, так и спорообразование. Так, индекс мицелиеобразования составляет 149,2-176,9 %, а спорообразования 165,0-186,9 %.

Особое внимание было уделено изучению изменчивости признаков мицелие- и спорообразования под влиянием экстракта дрожжевого. У всех изученных штаммов грибов установлена зависимость мицелие- и спорообразования от его концентрации в составе разбавителя посевного материала. Так, при концентрации 0,5-0,8 % экстракта дрожжевого в составе разбавителя отмечен высокий индекс как мицелиеобразования 149,2-176,9 %, так и спорообразования – 170,8-186,9 %.

Снижение концентраций сыворотки крови (2,0 %) и экстракта дрожжевого (0,2 %) в составе разбавителя посевного материала приводит к снижению индексов мицелиеобразования (83,6-98,1 %) и спорообразования (80,0-87,4 %). Повышение концентрации сыворотки крови (7,0 %) и экстракта дрожжей (0,9 %) в составе разбавителя приводит к такому уровню образования мицелия и спор, как и при использовании физиологического раствора.

Таблица 38

**Влияние состава питательной среды
на спорообразование гриба**

Штамм гриба	Наименование компонента, включенного в разбавитель	Концентрация компонента, %	Концентрация микроконидий, млн/см ³ среды	Индекс спорообразования, %	Жизнеспособность микроконидий, %
<i>Trichophyton verrucosum</i> ТФ-130	Натрия хлорид (НХ)	0,1	166,8	165,5	91,37
	Сыворотка крови (СК)	3,0			
	Экстракт дрожжей (ЭД)	0,8			
	НХ	0,12	172,2	170,8	91,0
	СК	5,0			
	ЭД	0,5			
	НХ	0,1	181,4	180,0	90,4
	СК	6,0			
	ЭД	0,8			
	НХ	0,1	176,4	175,0	92,4
	ЭД	0,8			
	Гидролизат белков крови (ГБК)	96,2			
	НХ	0,1	82,2	81,5	64,0
	СК	2,0			
	ЭД	0,2			
	НХ	0,1	102,0	101,2	68,0
	СК	7,0			
	ЭД	0,9			
НХ	0,85	100,8	100,0	74,0	
СК	-				
ЭД (контроль)	-				
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	НХ	0,1	152,8	165,0	90,6
	СК	3,0			
	ЭД	0,8			
	НХ	0,12	168,7	182,2	89,4
	СК	5,0			
	ЭД	0,5			
	НХ	0,1	173,1	186,9	89,6
	СК	6,0			
	ЭД	0,8			
	НХ	0,1	169,7	183,3	90,8
	ЭД	0,8			
	ГБК	96,2			
	НХ	0,1	80,9	87,4	66,8
	СК	2,0			
	ЭД	0,2			
	НХ	0,85	92,6	100,0	81,5
	СК	-			
	ЭД, (контроль)	-			

Следует отметить, что использование в качестве растворителя гидролизата белков крови и исключение сыворотки крови позволяет даже несколько повысить индекс образования спор.

Таким образом, предлагаемый способ выращивания грибов на основе разработанного состава разбавителя дает возможность без дополнительных затрат питательных сред и энергоносителей существенно снизить производственные затраты на изготовление вакцины и увеличить ее выход на 165,0-186,9 %.

Заключение. Предложен растворитель для подготовки посевного материала грибов, включающий 0,3-0,8 % экстракта дрожжей и 3,0-6,0 % сыворотки крови. Использование вместо физиологического раствора предлагаемого растворителя обеспечивает повышение выхода вакцины в 1,65-1,87 раза.

Литература. 1. Головина, Н.П. Культурально-морфологические и биологические свойства возбудителя трихофитии овец / Н.П. Головина // Тр. ВИЭВ. – 1987. – Т. 65. – С. 41-50. 2. Головина, Н.П. Патогенность и иммуногенность штаммов *Trichophyton verrucosum* разного зоологического происхождения / Н.П. Головина, Л.Г. Иванова // Бюлл. ВИЭВ. – 1983. – вып. 49. – С. 59-62. 3. Головина, Н.П. Разработка и использование метода селекции по признаку спорообразования у трихофитонов при изготовлении вакцины ТФ-30 ВИЭВ / Н.П. Головина // Бюлл. ВИЭВ. – 1984. – вып. 54. – С. 14-17. 4. Головина, Н.П. Специфические особенности возбудителя трихофитии овец (питательные потребности, культурально-морфологические свойства, патогенность) / Н.П. Головина // Актуальные вопросы медицинской микологии: Тез. докл. Международного симпозиума. – Л., 1987. – С. 42-44. 5. Головина, Н.П. Углеводное питание и культурально-морфологические свойства штаммов *Microsporum canis*, выделенных от собак и кошек / Н.П. Головина // Бюлл. ВИЭВ. – 1989. – № 72. – С. 22-32. 6. Летагин, К.П. Влияние температуры на спорогенез дерматофитов / К.П. Летагин, Т.Н. Мохина // Контроль качества и стандартизация биопрепаратов, фармакологических средств, кормовых добавок, применяемых в ветеринарии и животноводстве / Сб. науч. трудов. – М., 1984. – С. 74-79. 7. Самуйленко, А.Я. Научное обеспечение высокоэффективного производства ветеринарных биологических препаратов / А.Я. Самуйленко // Ветеринария. – 1996. – №8. – С. 26-29. 8. Самуйленко, А.Я. О разработке промышленных технологий производства биопрепаратов / А.Я. Самуйленко, Е.А. Рубан, Т.А. Авдеева // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 1999. – № 6. – С. 75-78.

Статья передана в печать 20.09.2012 г.

УДК: 619:615.371:616.98:578.822.2:636.2

ИММУННЫЙ ОТВЕТ У ТЕЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВИРУС-ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТИГЕНА С РАЗЛИЧНОЙ АКТИВНОСТЬЮ С РАЗЛИЧНЫМИ АДЪЮВАНТАМИ

Красочко П.А., Авласко Н.М.

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

В статье представлены данные по изучению иммунного ответа у телят при иммунизации их в 3-5-месячном возрасте против парвовирусной инфекции с использованием парвовируса с различной активностью (от 9 до 11 log₂) и при применении адъювантов ИЗА 15, эмульсигена и гидроксала. Поствакцинальный титр антител был достаточно высок при любой активности антигена, а наиболее целесообразным оказалось использование вакцины, в состав которой входит монтанид ИЗА 15 или эмульсиген.

Immune response of calves, vaccinated at 3-5 month against parvovirus infection with parvovirus activity 9-11 log₂ and different adjuvants – ISA 15, emulsigen and hydroxal was investigated. Post-vaccinal antibody titer was high enough at any antigen activity. Application of vaccine with adjuvant ISA 15 or emulsigen appeared most rational.

Введение. Современное развитие промышленного животноводства требует высоких объемов продукции, что напрямую зависит от благополучия того или иного хозяйства, района, области и республики в целом по инфекционным заболеваниям. Последствиями переболевания животных является ухудшение качества и недополучение продукции. Наиболее часто среди поголовья крупного рогатого скота регистрируются заболевания половой системы, следствиями которых являются аборт, эндометриты, вагиниты, маститы, баланопоститы, а у молодняка, рожденного от таких животных, подвержен риску заражения инфекциями, которые у новорожденных телят проявляются в виде пневмоний и тяжелых гастроэнтероколитов, зачастую заканчивающихся летально [1].

В этиологии такой симптоматики в хозяйствах Республики Беларусь первенство принадлежит парвовирусной инфекции крупного рогатого скота. В стадах с высокой степенью инфицированности возбудителем парвовирусной инфекции у животных значительно снижается оплодотворяемость, вирус проникает через плацентарный барьер, нарушая трофику плода обуславливает аборт у коров и поражение органов пищеварения у телят. У новорожденных телят инфекция протекает латентно, с признаками поражения желудочно-кишечного тракта. Заболевание проявляется в виде незначительного подъема температуры тела, профузного поноса, фекалии светло-серого цвета со значительным количеством слизи. При наслоении апатогенной микрофлоры (пастереллы, сальмонеллы, стафилококки) у телят выявляются признаки поражения органов дыхания и пищеварения. Патологоанатомически обнаруживают церебральную гипоплазию, кортикоцеребральный некроз и катарально-геморрагическое воспаление кишечника [3, 6].

С целью обеспечения полноценного здорового поголовья молодняка необходимо иметь здоровое поголовье коров. Наиболее целесообразным методом борьбы с инфекционными заболеваниями является специфическая профилактика животных и применение вакцин, антиген которых может противостоять полевому штамму того или иного инфекционного агента. Для получения полноценных телят, иммунная система которых способна бороться с инфекциями, необходимо прибегать к иммунизации стельного стада. Новорожденный теленок, полученный от вакцинированной матери, при условии выпойки ему молозива в первые часы жизни, приобретает колостральный иммунитет. Количество антител, переданных от коровы теленку, к 2-3- месячному возрасту значительно снижается, и молодой организм подвергается риску заражения. Таким образом, кроме вакцинации стельных коров необходимо подвергать иммунизации также и молодняк [2, 4].

При конструировании вакцины первостепенную роль играет качество антигена, его титр должен достигать такого уровня, чтобы организм на его введение реагировал выработкой достаточно напряженного иммунного ответа. После инактивации вируса в большинстве своем такие вакцины дают слабые иммунные реакции, повысить уровень иммунной реакции можно применением адъювантов, которые, неспецифически действуя, повышают специфический иммунный ответ на антиген. Однако универсального адъюванта для всех антигенов не существует. Эффективно повышающий иммуногенность при использовании одного инфекционного агента адъювант, может быть абсолютно инертным по отношению к другому. Кроме того, большинство из них на месте введения формируют так называемое депо антигена, что способствует повышению реактогенности организма [5].

Целью настоящего исследования стало изучение иммунного ответа у телят, вакцинированных инактивированной вакциной против парвовирусной инфекции крупного рогатого скота с разной активностью антигена при использовании разных адъювантов.

Материалы и методы. Для изучения иммунного ответа у молодняка была сконструирована инактивированная вирус-вакцина против парвовирусной инфекции крупного рогатого скота, для изготовления которой был использован аттенуированный штамм парвовируса КМИЭВ-48 с различной активностью (с титром 1:512, 1:1024, 1:2048). Вирус был накоплен на перевиваемой культуре клеток ПК 15. В качестве инактиванта вируса был использован теотропин в 0,1-0,2% концентрации. В инактивированный компонент вакцины были внесены адъюванты – эмульсиген в 10%-й концентрации, монтанид ИЗА 15 в 15%-й концентрации или 6 %-ная взвесь гидроокиси алюминия с сапонином в 30%-й концентрации и диспергированы в диспенсере.

Исследования проводились на телятах 4-5- месячного возраста на базе животноводческого хозяйства Республики Беларусь - МТФ «Волховичи» Минского района. Молодняк был разделен по принципу аналогов на 10 групп по 5 голов в каждой. Обработку животных проводили согласно схеме опыта:

Телят первой группы иммунизировали вакциной с титром антигена 1:512 и с использованием адъюванта эмульсиген. Телята второй группы иммунизировали вакциной с титром антигена 1:512 и с использованием адъюванта гидроксал. Телят третьей группы иммунизировали вакциной с титром антигена 1:512 и с использованием адъюванта монтанида ИЗА 15. Телят четвертой группы иммунизировали вакциной с титром антигена 1:1024 и с использованием адъюванта эмульсиген. Телят пятой группы иммунизировали вакциной с титром антигена 1:1024 и с использованием адъюванта гидроксал. Телят шестой группы иммунизировали вакциной с титром антигена 1:1024 и с использованием адъюванта монтанида ИЗА 15. Телят седьмой группы иммунизировали вакциной с титром антигена 1:2048 и с использованием адъюванта эмульсиген. Телята восьмой группы иммунизировали вакциной с титром антигена 1:2048 и с использованием адъюванта гидроксал. Телят девятой группы иммунизировали вакциной с титром антигена 1:2048 и с использованием адъюванта монтанида ИЗА 15. Телят десятой группы служили контролем.

Опытным животным вакцину против парвовирусной инфекции вводили в дозе 1 мл двукратно с интервалом в 14 дней. За животными устанавливали наблюдение в течение всего опытного периода, в ходе которого у молодняка ежедневно проводили термометрию и оценивали поедаемость ими кормов. У них отбирали кровь до иммунизации, через 14 (перед 2 иммунизацией) и через 35-40 дней. В крови у молодняка крупного рогатого скота изучали титр противовирусных антител в реакции торможения геммагглютинации согласно методике.

Результаты исследований. При проведении испытаний на молодняке крупного рогатого скота оценивали общее состояние телят, местную реакцию в ответ на введение чужеродного белка, а также титр противопарвовирусных антител в серологической реакции.

Результаты исследования по изучению иммунного ответа путем выявления уровня антител в сыворотке крови молодняка, вакцинированного инактивированной вакциной против парвовирусной инфекции крупного рогатого скота с различной активностью антигена при использовании различных адъювантов представлены в таблице 39.

Таблица 39

Титры противовирусных антител в крови у животных, вакцинированных вакциной из штамма КМИЭВ 48 парвовируса с разной активностью при использовании разных адьювантов

№ групп	Титр парвовируса в РГА	Адьювант	Титр антител в РТГА		
			Исходные показатели	Через 14 дней	Через 35 дней
ОГ 1	1:512	Эмульсиген	6,0±0,00	7,5±0,61	9,33±0,33*
ОГ 2	1:512	Гидроксал	7,67±0,88	8,63±0,13	8,63±0,38
ОГ 3	1:512	ИЗА 15	7,0±0,58	7,75±0,85	8,75±0,25
ОГ 4	1:1024	Эмульсиген	6,67±0,34	7,38±0,69	8,5±0,5
ОГ 5	1:1024	Гидроксал	8,0±0,00	8,25±0,52	8,5±0,5
ОГ 6	1:1024	ИЗА 15	7,34±0,34	8,25±0,48	9,5±0,65*
ОГ 7	1: 2048	Эмульсиген	6,34±0,88	7,75±0,25	9,0±0,20
ОГ 8	1: 2048	Гидроксал	6,67±1,20	8,13±0,31	9,25±0,25
ОГ 9	1: 2048	ИЗА 15	7,67±0,34	8,25±0,47	9,375±0,24*
Контроль			8,25±0,63	8,5±0,29	8,75±0,25

Примечание - * - $p < 0,05$

Анализируя данные проведенных исследований, необходимо отметить, что парвовирус при любом титре его антигена давал достаточно высокие показатели титра поствакцинальных антител, способные обеспечить иммунный ответ у телят достаточной напряженности. Однако при применении разных адьювантов уровень титров антител несколько отличался, кроме того, важным моментом являлось общее состояние организма в ответ на введение инфекционного агента и местная реакция. Общее состояние организма оценивалось путем ежедневной термометрии и контроля поедаемости кормов телятами. Общее состояние телят всех опытных групп и группы контроля оставалось удовлетворительным, в температурных графиках наблюдались лишь незначительные колебания в пределах физиологических норм. Иммунизация молодняка не оказывала отрицательного влияния на поедаемость кормов животными. Применение инактивированной вакцины против парвовирусной инфекции крупного рогатого скота с различными адьювантами вызывало на месте введения небольшую припухлость и покраснение. На месте введения вакцины с адьювантом формируется так называемое депо антигена, что способствует повышению иммунного ответа. При введении вакцины с эмульсигеном и монтанидом незначительная припухлость и покраснение проходили в течение 2-3-х дней, гидроксал же давал опухоль и повышение местной температуры в течение 5-7 дней.

Из таблицы 1 видно, что наиболее достоверным является увеличение титра антител при использовании инактивированной вакцины против парвовирусной инфекции с титром антигена 1:1024 и 1:2048 ($p < 0,05$) и с адьювантом монтанидом ИЗА 15. Однако увеличение титра антител в сыворотке крови коров, иммунизированных вакцинами с титром антигена 1:512 при применении и эмульсигена, и монтанида ИЗА 15, с $6,0 \pm 0,00 \log_2$ ($p < 0,05$) и $7,0 \pm 0,58 \log_2$ до $9,33 \pm 0,33 \log_2$ и $8,75 \pm 0,25 \log_2$, соответственно, является достаточным для обеспечения полноценного иммунного ответа. Установлено, что применение адьювантов оказывает положительное влияние на формирование иммунитета достаточной напряженности. Учитывая повышенную реактогенность на введение вакцины с адьювантом гидроксалом, наиболее целесообразно использование в качестве адьюванта эмульсигена либо монтанида ИЗА 15.

Закключение.

Иммунизация телят инактивированной вакциной против парвовирусной инфекции крупного рогатого скота с использованием антигена с различной активностью при применении разных адьювантов не оказывает отрицательного влияния на общее состояние организма и поедаемость кормов животными.

Активность парвовируса при любом его титре (от $9 \log_2$ до $11 \log_2$) при иммунизации молодняка крупного рогатого скота достаточно высока для получения полноценного иммунного ответа. При конструировании вакцины целесообразным является использование парвовируса с гемагглютинирующей активностью антигена 1:512.

Наиболее целесообразным является применение адьюванта, способствующего выработке напряженного специфического иммунного ответа, обладающего наибольшим сорбционным и иммуностимулирующим действием, но не оказывающего при этом отрицательного влияния на общее состояние организма и не вызывающего активную местную реакцию. Введение вакцины с адьювантом гидроксалом вызывает повышенную реактогенность, следовательно, наиболее целесообразным является использование в качестве адьюванта эмульсигена или монтанида ИЗА 15.

Литература: 1. *Болезни сельскохозяйственных животных* // Красочко П.А., Якубовский М.В., Ятусевич А.И., Зелютков Ю.Г. и др. Науч. ред. Красочко П.А. – Минск, Бизнесофсет, 2005. – 800 с. 2. Красочко, П.А. *Методические рекомендации по профилактике, лечению и мерам борьбы с пневмоэнтитами телят* / Под ред. П.А. Красочко // Мн., Энциклопедикс, 2000. – 40 с. 3. *Парвовирусные инфекции и их влияние на продуктивность животных* / Б.Г. Орлякин [и др.] / Обзорная информация. М.: ВНИИТЭИСХ, 1985. – 63 с. 4. *Рекомендации по специфической профилактике наиболее распространенных инфекционных болезней крупного рогатого скота в Республике Беларусь: утв. ГУВ МСХ и П РБ 18 января 2007 г.* / В.В. Максимович [и др.]. – Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – 54 с. 5. Староверов С.А., Семенов С.В., Сидоркин В.А. *Адьювантные свойства воднодисперсных растворов неионогенных поверхностно активных веществ и витаминов* // *Ветеринария*. - 2003. - №10. - С.30-31. 6. Юров, К.П. *Парвовирусная инфекция крупного рогатого скота* / К.П. Юров, И.А. Третьякова, А.С. Вечеркин // *Ветеринария*. 1994, № 5 – С. 26-27.

Статья передана в печать 26.09.2012 г.

УДК 567.743-654.97

ХАРАКТЕРИСТИКА ИК-СПЕКТРОВ АДЪЮВАНТОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

* Красочко П.А., ** Капуцкий Ф.Н., * Красочко И.А., ** Зубец О.В., * Аладьева Т.А

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

** Институт физико-химических проблем Белорусского Государственного университета

Приведен способ получения природных полисахаридов с повышенными сорбционными свойствами для их дальнейшего использования в качестве сорбентов и адъювантов. Проведен ИК-спектрофотометрический анализ полученных образцов полисахаридов и дана их характеристика

The way of receiving natural polysaccharides with the increased sorption properties for their further use is given in quality of sorbents and adjuvant. IR-spectrofotometric analysis of the received samples of polysaccharides is led and their characteristic is given

Введение. Механизм действия адъюванта состоит главным образом в депонировании антигена в месте введения и, соответственно, его более медленной доставке к иммунокомпетентным клеткам, что усиливает действие вакцины. Перспективной является возможность применения в качестве адъювантов для инактивированной вакцины модифицированной микрокристаллической целлюлозы. Микрокристаллическая целлюлоза применяется достаточно широко в фармацевтической промышленности в качестве добавки, играющей роль наполнителя и загустителя таблеток, капсул, мазей, различных лекарственных средств, а также в других специальных рецептурах. В то же время микрокристаллическая целлюлоза не содержит ионогенных групп, имеющих в некоторых других природных полисахаридах, и в силу этого не проявляет в достаточной степени, присущих им положительных качеств: повышенная гидрофильность, гелеобразование, способность химически связывать различные катионы [1]. Однако эти недостатки можно устранить путем подбора и модификации природных полимеров с целью повышения их сорбционных свойств. Для этого имеется возможность применения в качестве сорбента для вакцин (адъюванта) ряда природных полимеров, таких как альгинаты, а также модифицированной микрокристаллической целлюлозы.

Микрокристаллическая целлюлоза не содержит функциональных групп и поэтому имеет неизбирательную и относительно невысокую сорбционную активность. Напротив, пектины и альгинаты представляют собой природные полиэлектролиты, имеющие в своем составе карбоксильные группы и по этой причине являющиеся весьма эффективными сорбентами. Проведение модификации целлюлозы с целью придания ей полиэлектролитных свойств позволит увеличить сорбционную активность и повысить избирательность природного полимера.

Поэтому представляется вполне обоснованным использование модифицированных полисахаридов (целлюлозы) для использования в качестве сорбентов и адъювантов при конструировании вакцин.

Цель настоящих исследований - выбрать наиболее приемлемый образец для определения возможности использования в качестве адъюванта и сорбента и провести его оценку методом инфракрасной спектроскопии.

Материалы и методы. В экспериментах использовали следующие материалы и реагенты: древесная беленая целлюлоза (ГОСТ 3914-89), альгинат натрия ТУ-15-544-83, азотная кислота ГОСТ 4461-77 марки «ч.д.а.», соляная кислота ГОСТ 3118-77 марки «х.ч.», уксусная «ледяная» кислота ГОСТ 61-75 марки «х.ч.», гидроксид натрия ГОСТ 4328-77 марки «ч.д.а.», натрий двууглекислый ГОСТ 4201-79 марки «ч».

Микрокристаллическая целлюлоза была получена по традиционной схеме: гидролиз нативной древесной целлюлозы в кислой среде до порошкового состояния, затем полученный продукт отделяли на фильтре и тщательно отмывали дистиллированной водой до нейтральной pH промывных вод. После промывки материал высушивали в сушильном шкафу при 105 °С в течение 3-4 часов. При этом высушенная микрокристаллическая целлюлоза представляет собой неоднородную массу слипшихся при сушке агрегатов частиц. В определенных пропорциях данный продукт смешивали с альгинатом натрия (кремовый порошковый продукт, состоящий из чешуек различного размера, от менее чем 1 мм до 2-3 мм). Полученную смесь помещали в лабораторную мельницу для размолта твердых материалов «ИКА» и после непродолжительной, но интенсивной обработки получали однородную по цвету и составу порошковую массу. Таким образом было приготовлено 3 состава. Параллельно приготовили еще три образца, однако в этом случае совмещение компонентов проводили в водной среде, потому что альгинат натрия хорошо набухает и образует вязкий раствор. В полученный раствор погружали микрокристаллическую целлюлозу, затем смесь диспергировали в высокооборотистом лабораторном гомогенизаторе Waring Blender. Приготовленную однородную массу выливали на поддон и сушили в сушильном шкафу при 105°С в течение 5-6 часов. Затем осуществляли размол в мельнице до получения однородного порошкового продукта. В результате таких операций получали продукт, частицы которого имели нерастворимое ядро и были покрыты высокомолекулярным компонентом, хорошо набухающим в воде и содержащий функциональные группы (карбоксилатные). Полученные таким образом композиционные материалы были переданы в Институт экспериментальной ветеринарии для оценки их сорбционных свойств. Вместе с тем были подготовлены и переданы в качестве сравнения образцы микрокристаллической целлюлозы, альгината натрия, а также полученная на его основе альгиновая кислота.

ИК-спектры исследуемых образцов получали методами инфракрасной спектроскопии пропускания на спектрофотометрах Specord-75 IR, и на ИК-Фурье спектрофотометре Excalibur 3100 (Varian, USA).

Прибор позволяет проводить регистрацию ИК-спектров и передачу результатов измерений на ЭВМ, в которой реализуются процессы математической обработки спектральной информации.

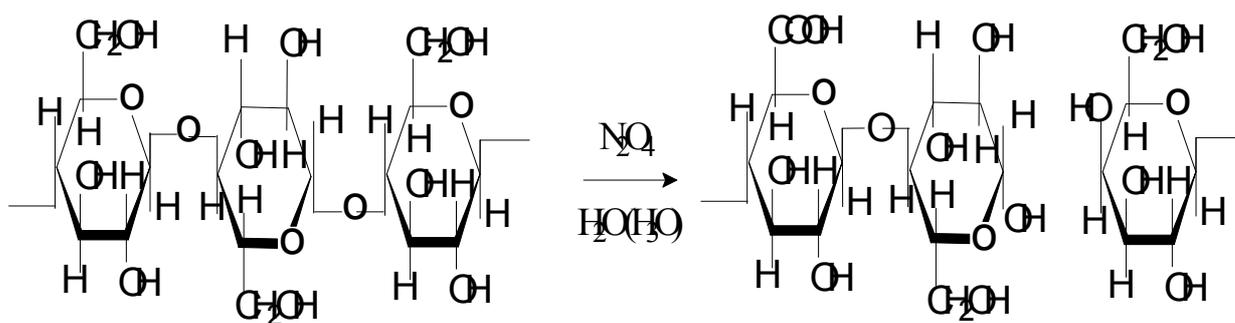
- Параметры регистрации ИК-спектров:
- спектральная область: 4000—350 см⁻¹;
 - целевая программа: 4;
 - интервал дискретизации: 1 см⁻¹;
 - количество сканирований: 20.

Образцы исследуемых веществ для ИК-спектроскопического исследования готовили по методу прессования таблеток с КВг. Тонко измельченные порошкообразные образцы предварительно высушивали в вакуумном сушильном шкафу при температуре 50⁰С, а затем тщательно перемешивали в агатовой ступке с сухим бромистым калием и запрессовывали в таблетки при давлении порядка 8·10⁸Па. Параллельно проводили также запись спектров водорастворимых полимеров, нанесенных и высушенных в виде пленки на подложку KRS-5 [2].

Результаты исследования. Микрокристаллическую целлюлозу получали гидролитической деструкцией нативной целлюлозы разбавленными минеральными кислотами при повышенных температурах (~100 °С). При этом происходит разрушение волокон полимера, значительное уменьшение степени его полимеризации, а конечный продукт выделяется в виде порошка. Однако в результате такой процедуры получается «высокооблагороженная» с повышенной кристаллическостью целлюлоза, имеющая, однако, невысокую сорбционную способность по отношению к различным ионногенным веществам.

Перспективной оказалась отработка способа получения модифицированной микрокристаллической целлюлозы в одну стадию с использованием одного реагента, как для целей гидролиза, так и для введения в полимер карбоксильных групп. В качестве кислого реагента нами была выбрана азотная кислота умеренной концентрации (50-56%). Регулируя температуру и продолжительность процесса, получали микрокристаллическую целлюлозу, содержащую, в зависимости от условий реагирования, от 3,0 до 12% COOH групп, выход конечного продукта при этом составил около 70%. Отмытый от остатков кислоты и высушенный полученный материал представляет собой порошок целлюлозы, имеющей карбоксильные группы и способной связывать продукты катионного характера. При переводе кислотных групп в солевые, например натриевые, данный материал приобретает повышенное сродство с водой и при определенных условиях может образовывать устойчивые суспензии и гели в водных системах, которые могут использоваться при приготовлении вакцин для животноводства. Кроме того, у препарата существенно возрастает сорбционная способность.

Благодаря тому, что мы проводили стадии окисления и гидролиз нативного полимера одним реагентом – раствором азотной кислоты, мы получали возможность совмещать эти два процесса в один, в результате чего получается продукт, представляющий собой порошок, обладающий свойствами полиэлектролитов – микрокристаллическая карбоксилированная целлюлоза. По своим сорбционным свойствам данный материал приближается к природным катионообменным полимерам - пектинам и альгинатам. Химизм процесса модификации целлюлозы представлен на рис.6.



Целлюлоза

Микрокристаллическая карбоксилированная целлюлоза

Рис. 6 Окисление и гидролиз целлюлозы

Полученный данным способом материал был тщательно промыт на фильтре Шотта дистиллированной водой от остатка азотной кислоты и высушен в вакуумном сушильном шкафу при 50 °С.

На рис. 2-3 приведены ИК-спектры различных образцов микрокристаллической целлюлозы и окисленной микрокристаллической целлюлозы.

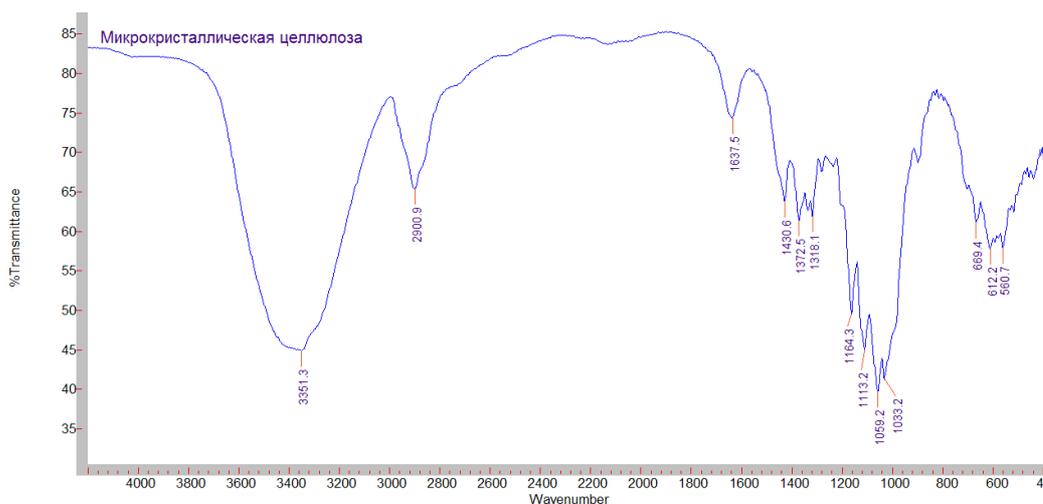


Рис. 7 ИК-спектры микрокристаллической целлюлозы

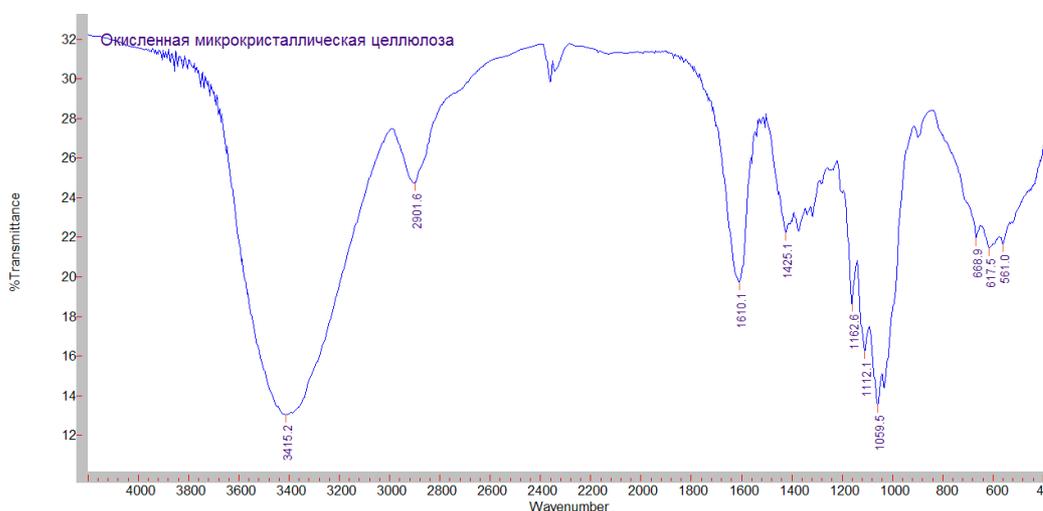


Рис. 8 ИК-спектр окисленной микрокристаллической целлюлозы

В ИК-спектрах микрокристаллической карбоксилированной целлюлозы, в отличие от исходной, появляется интенсивная полоса поглощения в области 1730 см^{-1} , обусловленная валентными колебаниями $\text{C}=\text{O}$ карбоксильной группы (рис. 8,7).

Сохранение кристаллической фазы свидетельствует, что процесс окисления целлюлозы протекает преимущественно на поверхности кристаллитов [3].

Другим источником природных полимеров для приготовления вакцин, на наш взгляд, могут служить водоросли (каррагинан, ламинарин и др.). Они содержат полисахариды, имеющие в своем составе карбоксильные и сульфозфирные функциональные группы и отличаются поэтому хорошим набуханием в воде, а также повышенными сорбционными свойствами. В частности, на нашем рынке широко представлен альгинат натрия производства Архангельского водорослевого комбината. Альгинаты широко используются как в пищевой промышленности, так и для медицинских целей в качестве наполнителей, загустителей, имеют высокие сорбционные показатели. В силу того, что альгинаты имеют высокое содержание карбоксильных групп, они могут быть достаточно привлекательным источником для получения адьювантов. [4].

Образец коммерческого альгината натрия был проанализирован на содержание карбоксильных групп. Для этого натриевую соль переводили в кислотную форму, обрабатывая ее слабым раствором соляной кислоты. После нескольких последовательных операций – обработки природного полимера кислотой и промывки его дистиллированной водой солевая форма альгината была переведена в Н-форму. Полноту перехода определяли с помощью ИК-спектроскопии (рис. 9,10).

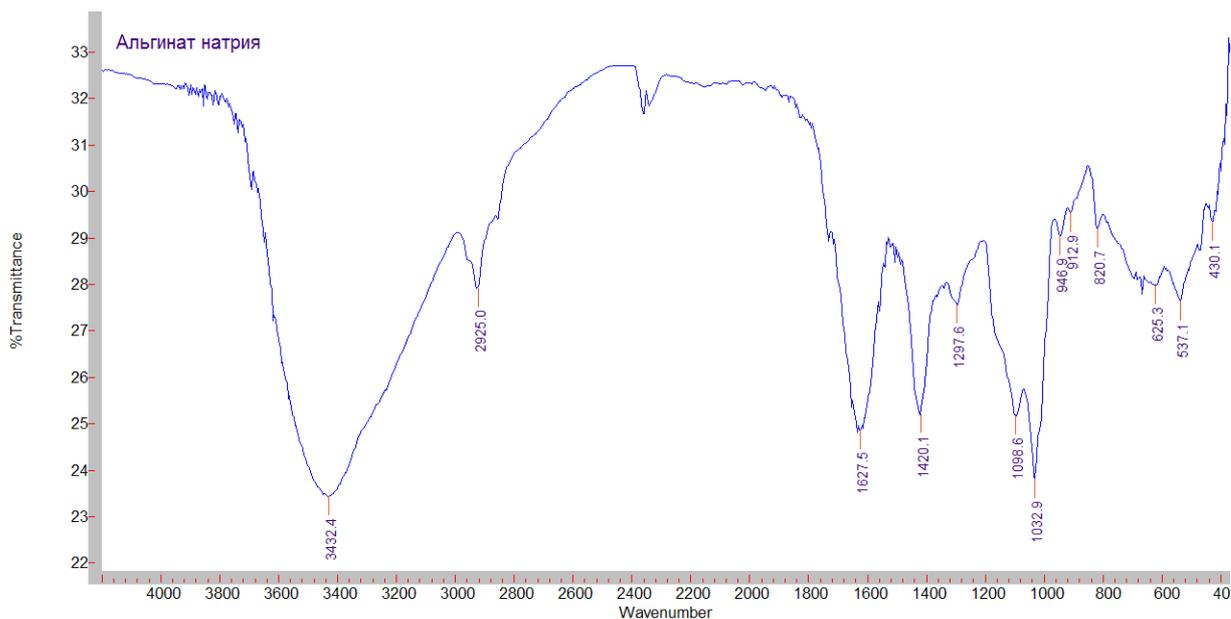


Рис. 9 – ИК-спектр альгината натрия

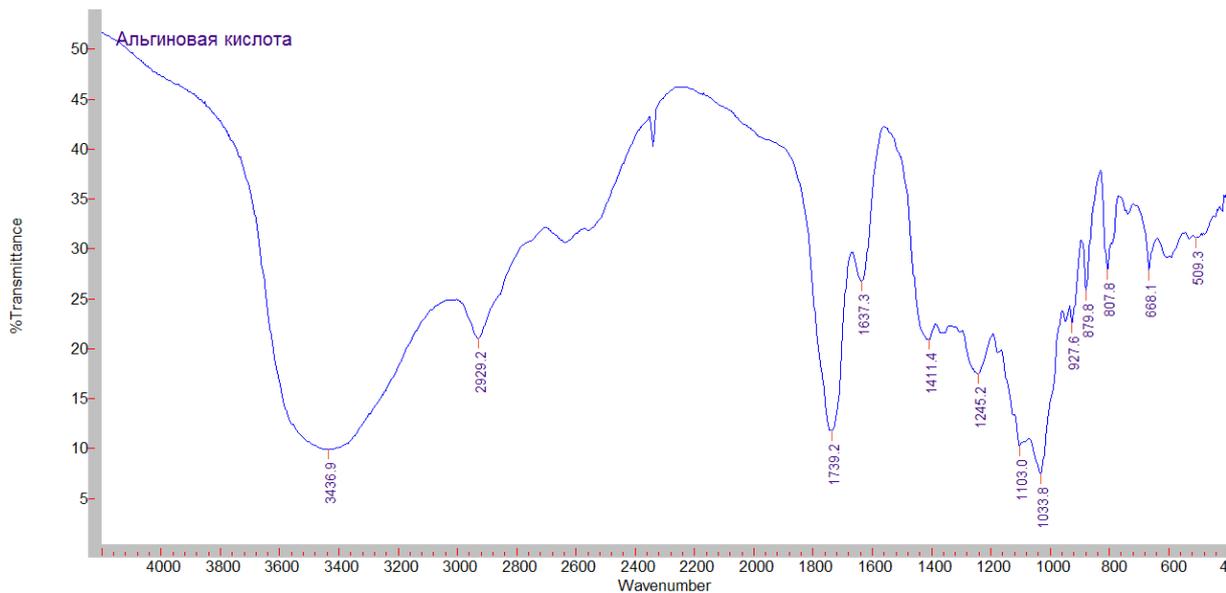


Рис. 10 – ИК-спектр альгиновой кислоты, полученной из альгината натрия

Из рисунков видно, что на ИК-спектре исследуемого образца наблюдается смещение максимума пика поглощения из области $\sim 1630 \text{ см}^{-1}$ (карбоксилат-ион) в область $\sim 1730 \text{ см}^{-1}$ (карбоксильная группа).

Заключение. Проведенный ИК-спектрофотометрический анализ природных полисахаридов свидетельствует о перспективности их использования для получения сорбентов и адьювантов.

Литература. 1. Беляков, Н.А. Энтеросорбция - механизм лечебного действия [Текст] / Н.А. Беляков, А.В. Соломенников // Эфферентная терапия. - 1997, - Т. 3, - № 2. 2. Иоелович, М.Я. Химия делигнификации и целлюлозы [Текст] / М.Я. Иоелович., Г.П. Веверис; под ред. Г.Ф. Закуса. - Рига: Зинатне. - 1991. - 114с. 3. Ермоленко И.Н. Спектроскопия в химии окисленных целлюлоз: монография [Текст] / И.Н. Ермоленко. - Минск: Изд. АН. БССР, 1959. - 291 с. 4. Хотимченко Ю.С. Полисорбовит [Текст] / Ю.С. Хотимченко, М.В. Одицова, В.В. Ковалев. - Томск: изд-во НГЛУ. - 2001. - 132 с.

Статья передана в печать 05.09.2012 г.

УДК 256-344.75.789-64

ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВВЕДЕНИИ ВАКЦИН С МАСЛЯНЫМИ АДЪЮВАНТАМИ

* Красочко П.А., * Красочко И.А., ** Высокоморная О.В.

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

**УО «Гродненский государственный аграрный университет»

В статье приведены результаты изучения тканевой реакции у лабораторных животных при введении вакцины с различными масляными адъювантами - Montanide ISA 70, Montanide ISA 15, Montanide ISA 206 и Эмульсиген 10%. Установлено, что при использовании адъювантов Эмульсиген 10%, Montanide ISA 15, Montanide ISA 206 в мышечной ткани отмечают наличие некротизированных клеток и интенсивной пролиферации лимфоидных клеток на месте некротического детрита.

In the article the results of studying tissue response in laboratory animals with the introduction of the vaccine with different adjuvants-Montanide ISA oil 70, Montanide ISA 15, Montanide ISA 206 and Emul'sigen 10%. Found that when using adjuvants Emul'sigen 10%, Montanide ISA 15, Montanide ISA 206 in muscle tissue have a nekrotizirovannyh cells and intense proliferation of lymphoid cells in Necrotizing detritus.

Введение. В современных условиях при конструировании инактивированных вакцин обязательным компонентом должны быть адъюванты, так как инактивированные вирусы в чистом виде обладают низкой иммунологической активностью. Иммуногенность вакцин зависит не только от количества и качества антигена, способа применения и технологии изготовления препарата, но и от правильного выбора неспецифических стимуляторов иммуногенеза – адъювантов.

Преимущества использования адъювантов в композициях вакцин включают их способность: направлять и оптимизировать иммунный ответ, ускорять опосредованные клетками реакции, усиливать иммуногенные свойства слабых иммунных компонентов, совершенствовать качество вакцин и их эффективность в тех случаях, когда иммунные ответы реципиентов ослаблены [6].

Выбор адъювантов для вакцины должен быть основан на анализе потенциального преимущества адъюванта для усиления иммуногенности вакцины, соотношенного с риском индуцирования местных и системных реакций [8].

Инактивированные вакцины на основе масляных адъювантов широко используются для профилактики ряда инфекционных болезней животных уже долгое время. Эти адъюванты способствуют формированию напряженного и продолжительного иммунитета. Современные инактивированные эмульсионные вакцины представляют собой иммунобиологические препараты, содержащие в большой концентрации цельные вирусы или бактерии в комбинации с масляным адъювантом, в большинстве случаев формирующим эмульсию обратного типа («вода-масло») [1, 2].

Механизм их действия заключается в эмульгировании антигена в масляную оболочку путем образования «эмульсионного шарика». Для усиления иммунного ответа антиген должен находиться внутри капель воды, диспергированных в липидной фазе. Эмульсии освобождают антиген в течение более длительного времени, чем сорбированные вакцины, что может объяснить более напряженный и длительный иммунитет организма на вводимый антигенный компонент [7].

Общим недостатком эмульсионных вакцин на основе обратной эмульсии является их относительно высокая вязкость и сильная тканевая реакция в точке введения, которая может проявиться отеком, развитием хронического воспаления, инкапсулированием вакцины [3,4,5].

Компаниями MVP Laboratories, Inc. и Sepic были разработаны новые серии адъювантов – эмульсиген (Emulsigen) и ИЗА. Данные адъюванты представляют собой молочно-белую эмульсию типа масло в воде, предназначенную для смешивания непосредственно с вакцинными антигенами без какой-либо дальнейшей обработки для повышения иммуногенности окончательной вакцины [9].

Однако в доступной нам литературе сведений о клеточной реакции на введение вакцин с масляными адъювантами нами не обнаружено.

Целью исследования было изучение тканевой реакции у лабораторных животных при введении вакцины с различными масляными адъювантами.

Материалы и методы.

В качестве тест-объекта использовали инактивированные теотропином штаммы вируса ИРТ - КМИЭВ 7 (титр вируса 7,0 Ig ТЦД 50/мл) и *Proteus mirabilis* - КМИЭВ 44 (концентрация 2,0 млрд. микробных тел в 1 мл). Для изучения влияния вакцины на ткань использовали следующие масляные адъюванты: Эмульсиген (10%), Montanid ISA 15 (15%), Montanid ISA 70 (70%), Montanid ISA 206 (50%).

Для изучения тканевой реакции после вакцинации использовали лабораторных животных – белых крыс. Животных разделили на 5 групп по 4 головы в группе и обработали вирусно-бактериальной вакциной (ИРТ + *Proteus Mirabilis*) с разными адъювантами. Крысам первой опытной группы вводили внутримышечно по 1,0 мл вирусно-бактериальной вакцины с адъювантом Эмульсиген; крысам второй опытной группы вводили вакцину с адъювантом Montanid ISA 15, крысам третьей опытной группы вводили вакцину с адъювантом Montanid ISA 70, крысам четвертой опытной группы вводили вакцину с адъювантом Montanid ISA 206, крысы пятой опытной группы – контроль.

Отбор тканей для гистологического исследования осуществлялся на 3 и 7 день после введения вакцины. Для фиксации материала использовался 10% нейтральный формалин.

Обработка фиксированных тканей осуществлялась по следующей методике:

1. После фиксации тканей в формалине осуществляли промывку в проточной воде. Кусочки тканей (размер 1x1x0,5) оборачивали в марлю, которую крепили к краю сосуда. На водопроводный кран надевали резиновую трубку, конец которой опускали в сосуд с образцами тканей. Промывку осуществляли в течение 24 часов.

Таблица 40

После промывки образцы тканей проходили обезвоживание:

№ п/п	Реагент	Время, мин
1	Ацетон	30
2	Ацетон	30
3	Ацетон	30
4	Ацетон	30
5	Уайт-спирит	60
6	Уайт-спирит	60
7	Уайт-спирит	60

3. Для получения тонких гистологических срезов фиксированный и промытый материал заливали в плотную среду, предварительно пропитав ею кусочки тканей. В данном случае использовался парафин.

8	Парафин 56°С	60
9	Парафин 56°С	60
10	Парафин 56°С	60
11	Парафин 56°С	60

Для изготовления срезов использовали микротом. Полученные срезы при помощи мягкой кисточки (слегка смоченной водой) или препаровальной иглы снимали с ножа и переносили на обезжиренные предметные стекла и приклеивали белковым клеем. Для расправления срезы переносили в емкость (чашку, бобовидный тазик) с теплой (46-48°С) дистиллированной водой и расправляли. Окрашивание проводится с целью оптической дифференцировки структурных элементов тканей. Срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Этот метод позволяет не только определить наличие патологических изменений, но и ориентировать на необходимость применения других дополнительных методов для окончательного установления диагноза.

Окраску гистосрезов проводили в следующем порядке:

- депарафинирование (ксилол – 3 порции, спирт 100°, 96°, 70°, вода дистиллированная – 2 порции) по 2 минуты в каждом растворе;
- промывка в водопроводной воде 60-90 секунд;
- дифференцировка в солянокислом спирте (1 -процентный раствор соляной кислоты в 70° спирте) до появления розового цвета срезов (30-60 секунд);
- промывка в водопроводной воде (лучше в двух порциях) 3-5-10 минут до посинения срезов;
- окраска раствором эозина – 2-5- минут;
- промывка в дистиллированной воде 40-60 секунд;
- обезвоживание в спиртах возрастающей крепости (70°, 96°, 100°) по 1 минуте;
- просветление гистосрезов в карбол-ксилоле 2 минуты;
- окрашенные гистосрезы переносят в ксилол на 1-2 минут, после чего заключают в бальзам.

Для просветления срезов используют карбол-ксилол в соотношении 1:4-1:10 (по объему). Для заключения срезов под покровное стекло применяли пихтовый бальзам.

При заключении срезов каплю бальзама наносили на предметное стекло под углом 45°С. Когда бальзам растечется по краю, плавно его опускали на срез, поддерживая противоположный край иглой. Излишки бальзама удаляли со стекла салфеткой или тряпочкой, слегка смоченной ксилолом. Препарат клали на планшет горизонтально на 24-48 часов, желательно под груз. При этом методе окраски ядра клеток лиловые или синие; цитоплазма – красного цвета различного тона, соединительная ткань – светло-розового цвета.

Просмотр и оценку гистоизменений проводили под микроскопом «Олимпус» с теленасадкой.

Результаты исследований.

В результате проведенных исследований при внутримышечном введении вакцины с различными адьювантами не отмечено гибели животных, на месте введения была небольшая припухлость и болезненность в первые дни после инъекции.

При проведении гистоисследований установлено следующее.

У крыс контрольной группы мышечная ткань была без инфильтрации, мышечные волокна ровные, без признаков воспаления (рис.1).

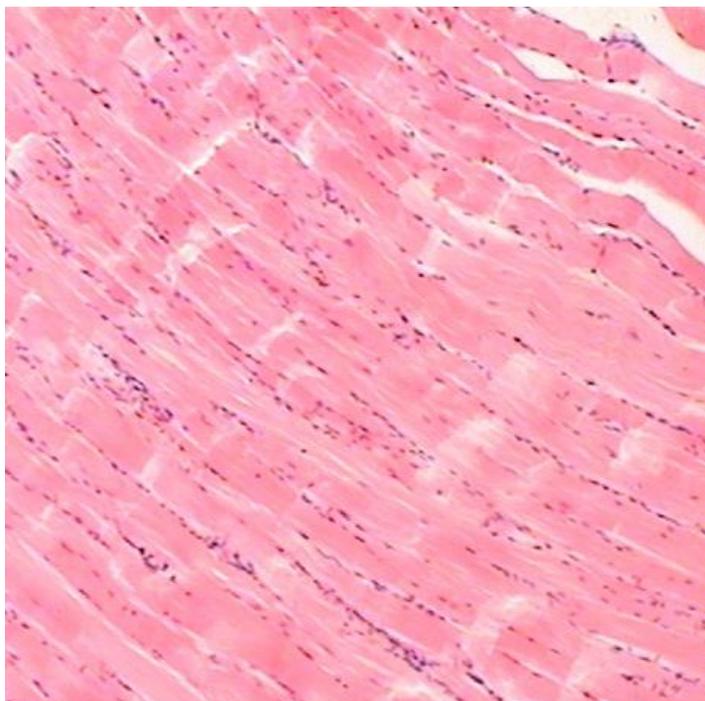


Рис. 11. Мышечная ткань у крыс контрольной группы.

У крыс, которым вводилась вакцина, в мышечной ткани имелись изменения различной степени. При изучении влияния вакцины с адъювантом *Montanide ISA 206* получены следующие результаты, приведенные на рис. 2-7.

3 суток

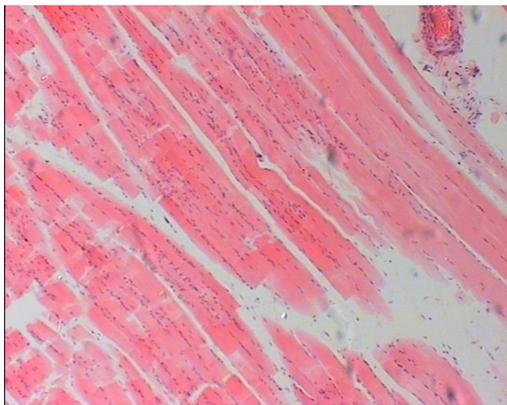


Рис. 12. Слабые пролифераты лимфоидных клеток в интерстиции

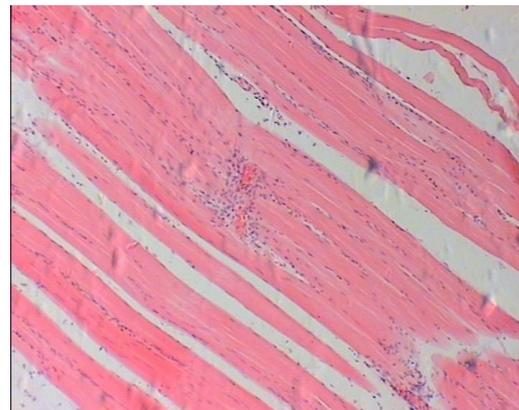


Рис. 13. Слабые пролифераты лимфоидных клеток в интерстиции, фрагментация мышечных волокон

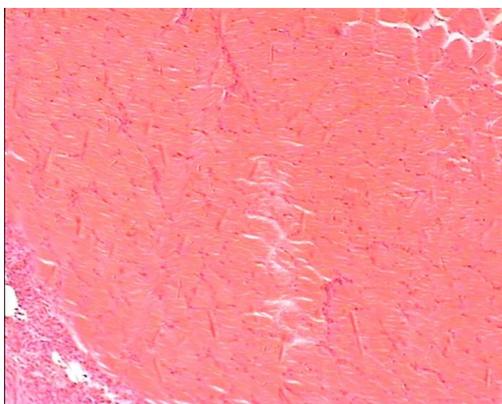


Рис. 14. Лимфоидный пролиферат по периферии мышцы, слабая пролиферация в интерстиции

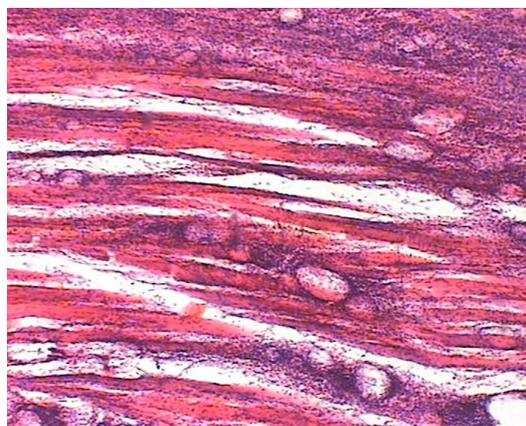
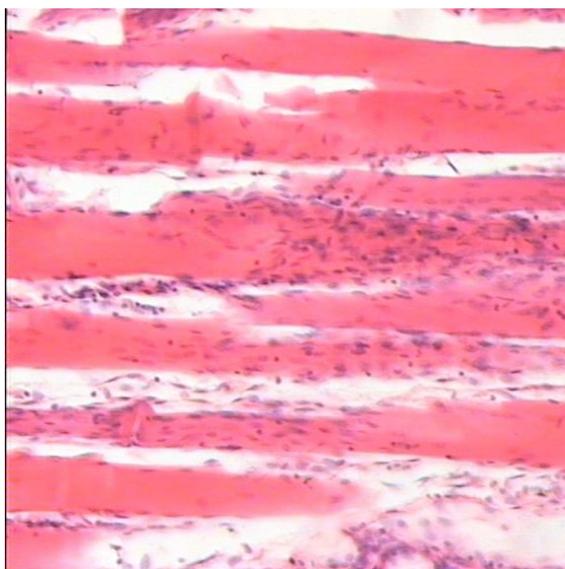


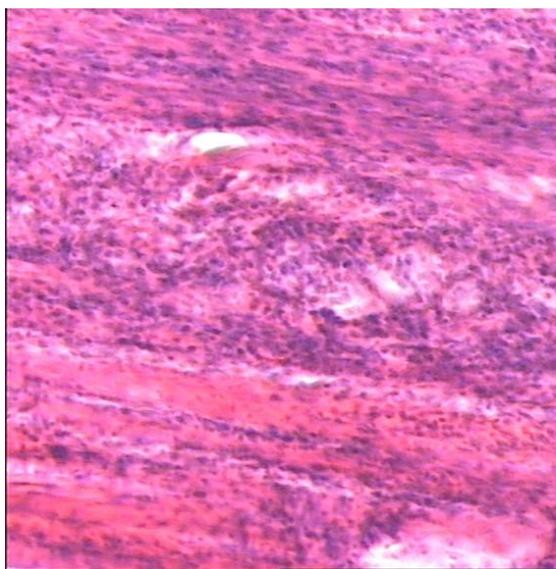
Рис. 15. Интенсивные лимфоидные пролифераты с некрозом мышечных волокон

7 сутки



(X100)

Рис. 16. Фрагментация мышечных волокон, разрастание соединительной ткани



(X100)

Рис. 17. Некроз мышечных волокон, замещение пролифератами лимфоидных клеток некротизированной массы

Из микрофотографий видно, что через 3 суток после введения вакцины с адъювантом *Montanide ISA 206* в области введения отмечены слабые пролифераты лимфоидных клеток в интерстиции, фрагментация мышечных волокон. Имеются также интенсивные лимфоидные пролифераты с некрозом мышечных волокон, лимфоидный пролиферат по периферии мышцы, слабая пролиферация в интерстиции. Через 7 суток на месте инъекции отмечена фрагментация мышечных волокон, разрастание соединительной ткани, а также - некроз мышечных волокон, замещение пролифератами лимфоидных клеток некротизированной ткани.

При изучении влияния вакцины с адъювантом *Montanide ISA 15* получены следующие результаты, приведенные на рис. 8-13.

3 суток

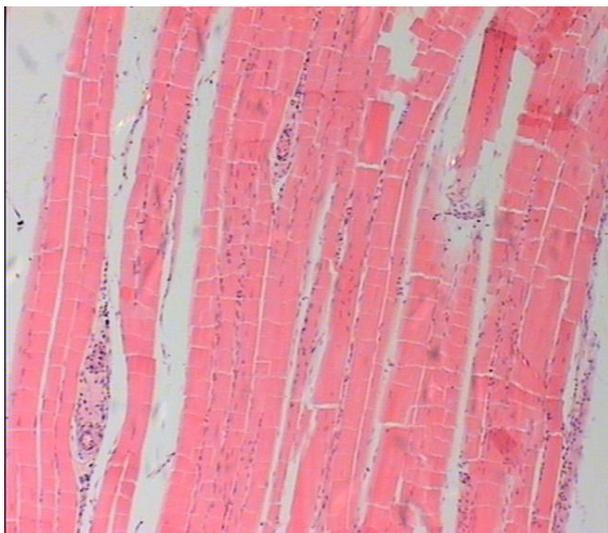


Рис. 18. Отек и фрагментация мышечных волокон, слабая лимфоидно-макрофагальная пролиферация

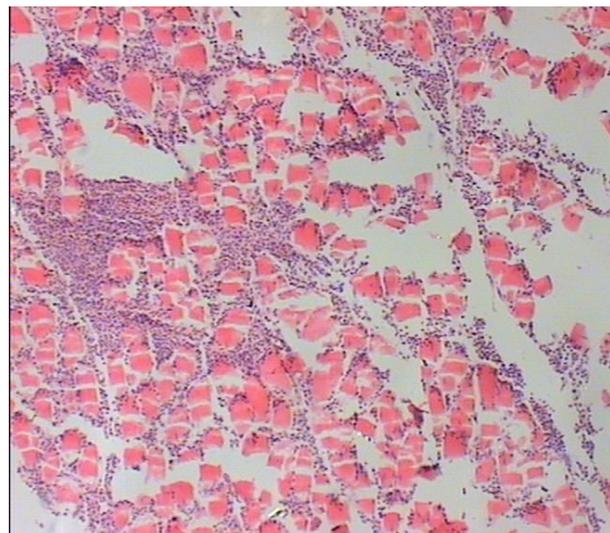


Рис. 19. Отек и некротизация мышечных волокон, интенсивная лимфоидно-макрофагальная пролиферация

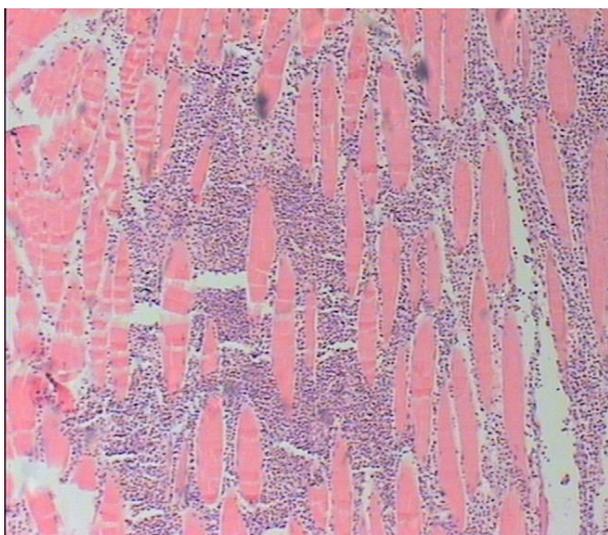


Рис. 20. Некротизация мышечных волокон, интенсивная лимфоидно-макрофагальная пролиферация

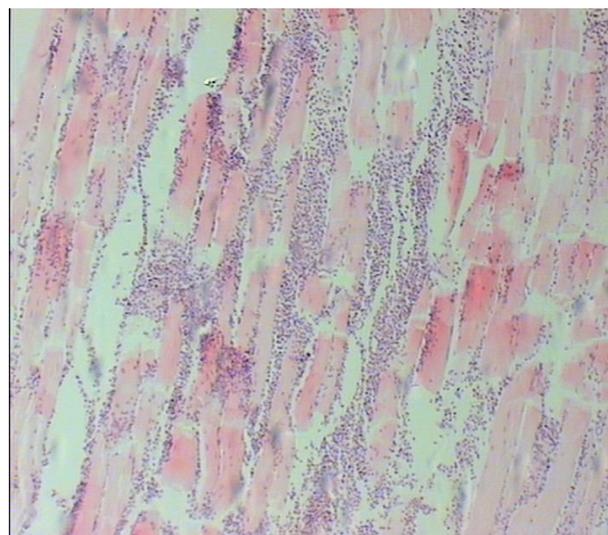


Рис. 21. Некротизация мышечных волокон, интенсивная лимфоидно-макрофагальная пролиферация в интерстиции

7 суток

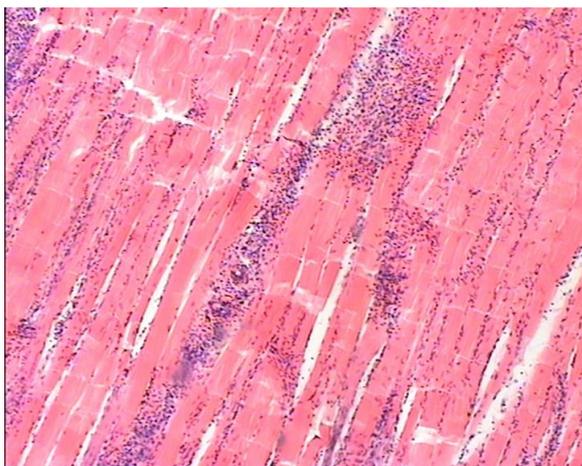


Рис. 22. Умеренная лимфоидно-макрофагальная пролиферация в интерстиции, фрагментация мышечных волокон

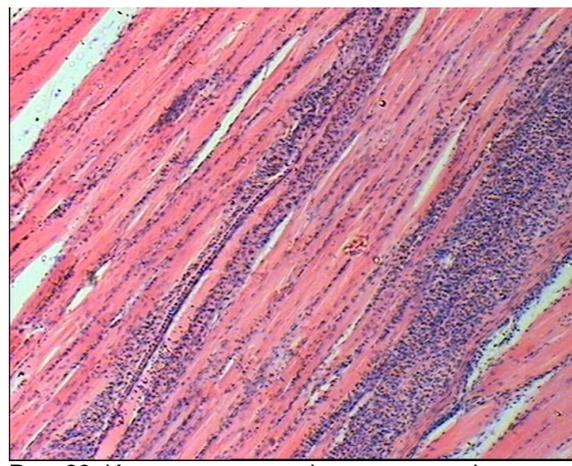


Рис. 23. Интенсивная лимфоидно-макрофагальная пролиферация

Из микрофотографий видно, что через 3 суток после введения вакцины с адьювантом *Montanide ISA 15* на месте введения отмечены отек и фрагментация мышечных волокон, слабая лимфоидно-макрофагальная пролиферация. На отдельных гистосреззах - отек и некротизация мышечных волокон, интенсивная лимфоидно-макрофагальная пролиферация. Кроме того, имеется некротизация мышечных волокон, интенсивная лимфоидно-макрофагальная пролиферация в интерстиции. Через 7 суток на месте инъекции отмечена умеренная лимфоидно-макрофагальная пролиферация в интерстиции, фрагментация мышечных волокон, а также интенсивная лимфоидно-макрофагальная пролиферация.

При изучении влияния вакцины с адьювантом *Montanide ISA 70* получены следующие результаты, приведенные на рис. 14-19.

3 суток

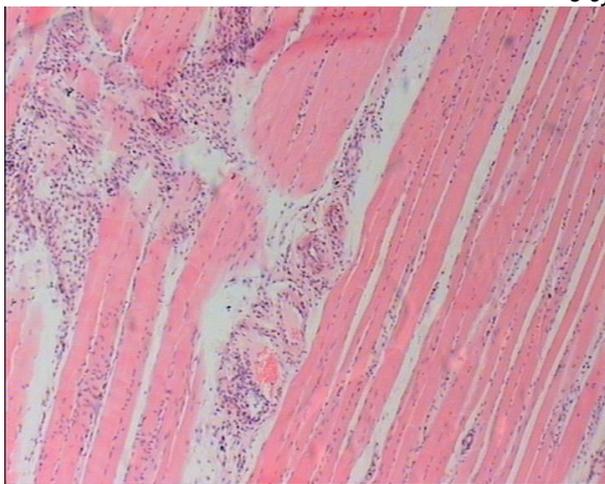


Рис. 24. Отек интерстиции, умеренная пролиферация лимфоидно-макрофагальных клеток и разрастание соединительной ткани в интерстиции

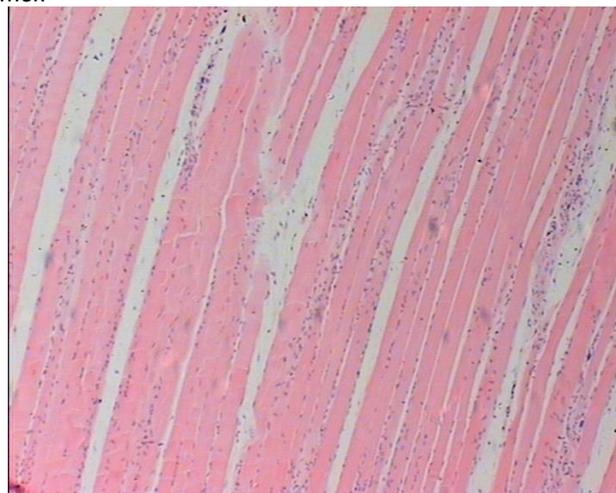


Рис. 25. Слабые пролифераты в интерстиции мышцы

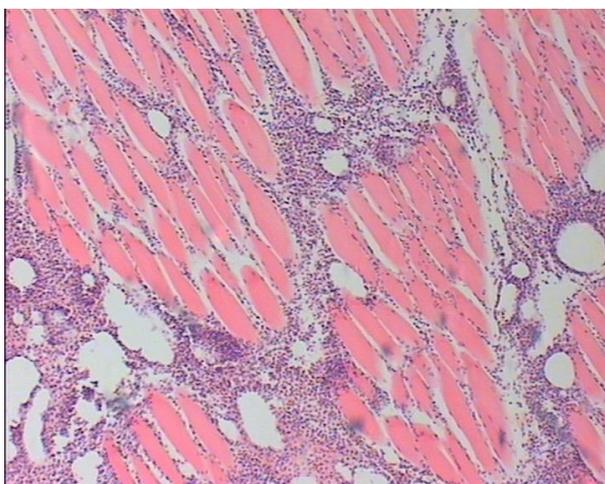


Рис.26. Крупные пролифераты в интерстиции мышцы и на месте некротизированных мышечных волокон

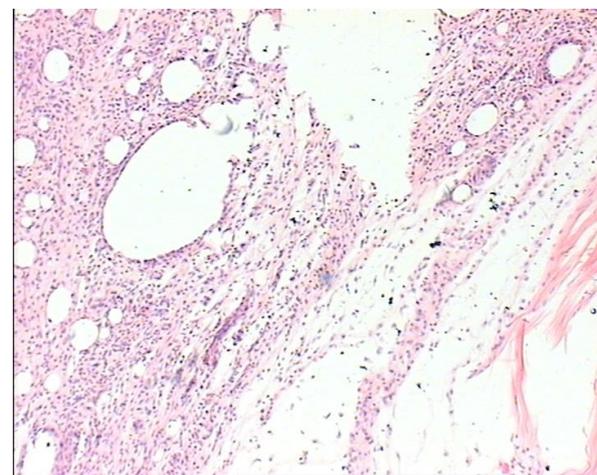


Рис. 27. Крупные пролифераты в интерстиции мышцы и на месте некротизированных мышечных волокон

7 суток

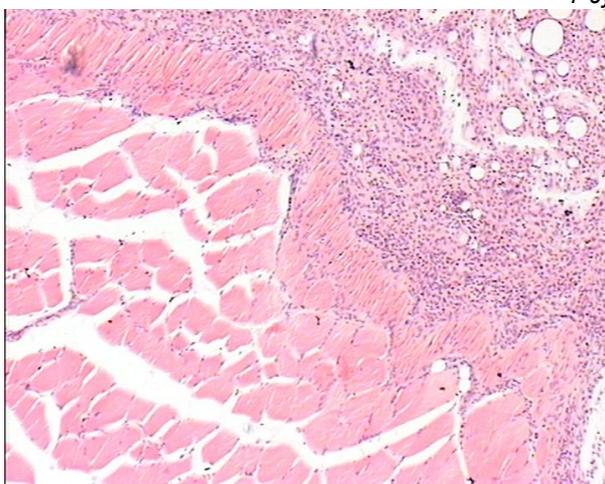


Рис.28. Отек интерстиции, умеренная пролиферация лимфоидно-макрофагальных клеток и разрастание соединительной ткани в интерстиции

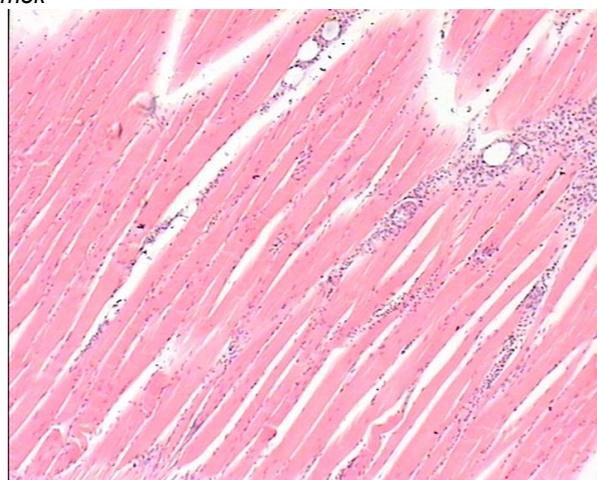


Рис. 29. Слабые пролифераты в интерстиции мышцы

Из микрофотографий видно, что через 3 суток после введения вакцины с адъювантом *Montanide ISA 70* на месте введения отмечены отек интерстиции, умеренная пролиферация лимфоидно-макрофагальных клеток и разрастание соединительной ткани в интерстиции. Имеются слабые пролифераты в интерстиции мышцы и крупные пролифераты в интерстиции мышцы и на месте некротизированных мышечных волокон. Через 7 суток на гистосрезях отмечается отек интерстиции, слабая или умеренная пролиферация лимфоидно-макрофагальных клеток и разрастание соединительной ткани в интерстиции.

При изучении влияния вакцины с адъювантом *Эмульсиген 10%* получены следующие результаты, приведенные на рис. 20-21.

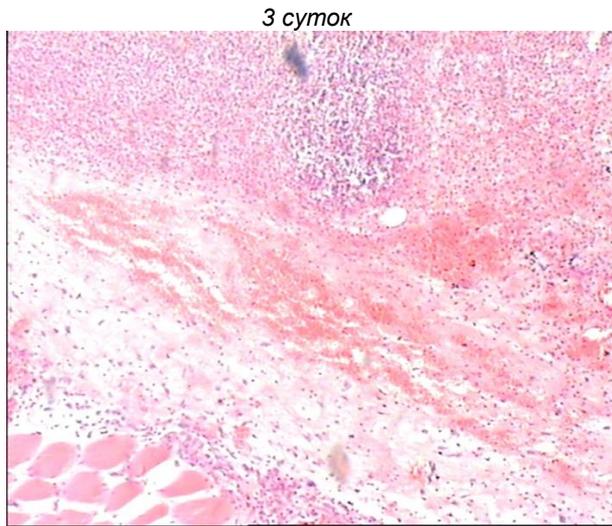


Рис. 30. Некроз мышечных волокон, формирование демаркационного вала, очаговая пролиферация лимфоидных клеток

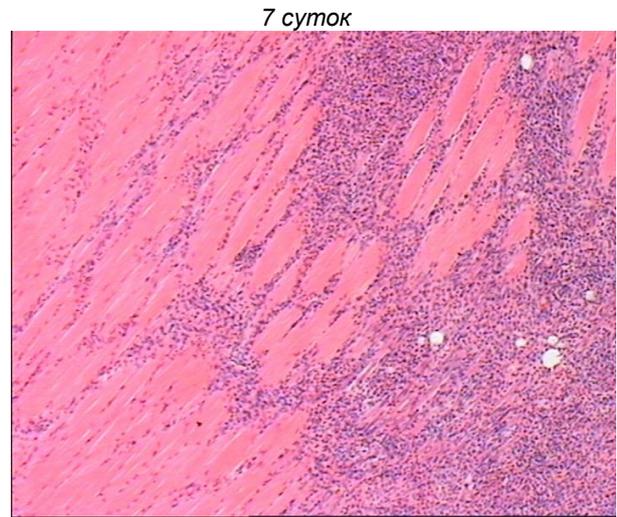


Рис. 31. Некроз мышечных волокон. Интенсивная пролиферация лимфоидных клеток на месте некротического детрита

Через 3 суток после введения вакцины против инфекционного ринотрахеита и протейной инфекции с адъювантом *Эмульсиген* на месте введения отмечается некроз мышечных волокон, формирование демаркационного вала, очаговая пролиферация лимфоидных клеток, а через 7 суток - некроз мышечных волокон, интенсивная пролиферация лимфоидных клеток на месте некротического детрита.

Заключение. Анализ полученных данных свидетельствует, что при использовании масляных адъювантов *Montanide ISA 70*, *Montanide ISA 15*, *Montanide ISA 206* и *Эмульсиген 10%* на месте введения имеются существенные патологические изменения. Это особенно отмечается при использовании адъювантов *Эмульсиген 10%*, *Montanide ISA 15*, *Montanide ISA 206*. При этом в мышечной ткани отмечают наличие некротизированных клеток и интенсивной пролиферации лимфоидных клеток на месте некротического детрита.

Литература. 1. Бомфорд, Р. Адъюванты / Р. Бомфорд // Биотехнол. клеток животных. – М., 1989. – Т. 2. – с. 264-280. 2. Bokhout, B. A. The influence of a water-in-oil emulsion on humoral immunity / B. A. Bokhout, A. T. I. Bianchi, Ph. I. van der heijden [et al.] // *Comp. Immunol., Microbiol. And Infect. diseases.* – 1986. – Vol. 9 - № 2-3. – P. 161-168. 3. Мамков, Н. С. Оценка реактогенности компонентов эмульсионных вакцин на белых мышах / Н. С. Мамков, В. Ю. Савельев, А. И. Дудников // *Акт. пробл. вет. вирусол. : тез. докл. научн. конф., посвящен. 30-летию ВНИИИ.* – Владимир, 1988. – ч. 2. – с. 31-33. 4. Самуйленко, А. Я. Оценка реактогенности эмульгаторов в составе эмульсионных вакцин на морских свинках / А. Я. Самуйленко, Н. Д. Скичко, М. В. Большакова [и др.] // *Научн. основы технологии пром. пр-ва вет. биол. препаратов : тез. докл. третьей Всесоюз. конф.* – М., 1987. – с. 34-35. 5. Droual, R. Investigation of problems associated with intramuscular breast injection of oil-adjuvanted killed vaccines in chickens / R. Droual, A. A. Bickford, B. R. Charlton [et al.] // *Avian Diseases.* – 1990. – Vol. 34. - № 2. – P. 473-478. 6. Vaccine adjuvant: it makes difference/ K. M. Lima, S. Aparecida dos Santos, J. M. Rodrigues [et al.] // *Vaccine.* – 2004. – Vol. 22, №19. – P. 2374-2379. 7. Красочко, П. А. Подбор оптимальных адъювантов при конструировании ассоциированной инактивированной вакцины против ротавирусной инфекции и колибактериоза крупного рогатого скота [Текст] / П. А. Красочко, Ю. В. Ломако, Ю. П. Яромчик // *Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник научных трудов / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Главное управление образования, науки и кадров, Учреждение образования "Белорусская государственная сельскохозяйственная академия".* - Горки, 2011. - Вып. 14, ч. 2. - С. 244-249. 8. Селиверстов, А.В. Сравнительная оценка масляных адъювантов в составе вакцины против инфекционной бурсальной болезни / Селиверстов А.В., Борисов А.В., Борисов В.В., Долгов Д.Л., Фролов С.В. // *Труды Федерального центра охраны здоровья животных.* - Владимир, 2010; Т. 8. - С. 155-169. 9. Красочко, П. А. Изучение антигенных свойств компонентов вакцины против вирусной диареи, клебсиеллеза, ротавирусной и протейной инфекций крупного рогатого скота с различными адъювантами / Красочко П.А., Борисовец Д.С., Ломако Ю.В., Еремец Н.К. // *Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов / Всерос. науч.-исслед. и технол. ин-т биол. пром-сти.* - Щелково, 2009. - С. 253-260

Статья передана в печать 21.09.2012 г.

УДК 345.466-74.867

ОЦЕНКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ПЕРЕВИВАЕМЫМИ КЛЕТКАМИ МДБК*** Красочко П.А., ** Чижик С.А., ** Худoley А.Л., *Станкуть А.Э., **Дрозд Е.С.*****РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,******ГНУ «Институт тепло- и массообмена имени А.В. Лыкова НАН Беларуси,****г. Минск, Республика Беларусь**

Приведены результаты изучения взаимодействия наночастиц серебра с перевиваемой культурой клеток почки теленка МДБК с помощью атомно-силовой микроскопии. Установлено, что проникновение наночастиц серебра внутрь клеток не повреждает клеток, а увеличивает их упругость,

Results of studying of interaction of nanoparticles of an oxide of zinc with intertwined culture of cells of a kidney of a calf of MDBK by means of nuclear and power microscopy are given. It is established that nanoparticles of an oxide of zinc (ZnO) reduce elasticity of cages, on a surface of cages deepenings – a time that testifies to damage of cages are found out.

Введение. В последнее десятилетие особое внимание уделяется изучению взаимодействия наночастиц с биологическими клетками и возможности использования наночастиц в медицине и в других приложениях. Наночастицы уже нашли свое применение в качестве маркировочных агентов, так как обеспечивают очень сильные и стабильные оптические сигналы и позволяют получить информацию о наличии определенного вещества, а также используются для транспортировки лекарственных веществ в организм [1,2].

В связи с широким их использованием в биологии и медицине и открытием все новых уникальных свойств у обычных материалов на субмикрометрическом уровне особое внимание стало уделяться проблеме взаимодействия наночастиц с биологическими системами. Поэтому необходима уверенность в том, что внедрение в практику нанотехнологий и их использование не создаст дополнительных проблем в будущем, как это уже случалось прежде. Таким образом, для дальнейшего развития и применения нанотехнологий требуется не только изучение физико-химических свойств самих наноматериалов, но и четкое понимание механизмов их поведения в биологических системах и взаимодействия наночастиц с клетками организма. Это связано с тем, что при введении в организм наночастиц возникает опасность проявления ими цитотоксических эффектов, которые зависят от многих факторов.

На сегодняшний день установлено, что химические и биологические свойства наночастиц существенно отличаются от свойств исходного материала, из которого они были получены. Так, при введении наночастиц металлов в организм требуется время для их растворения, связывания с биолигандами, достижения мишеней биологического действия. Поэтому важным свойством наночастиц металлов при введении в организм является их пролонгированное действие. Это, безусловно, относится и к материалам на основе серебра и меди [3,4].

Таким образом, рассматривая взаимодействие наночастиц металлов с живыми клетками, следует начать с той особенности, что наночастицы, попав в кровь, лимфу или любую другую биологическую жидкость, покрываются слоем белков, всё время находящихся в растворе и адсорбирующихся на поверхности частицы. Вследствие этого модифицируются как свойства самих частиц, так и белков. Основные белки, прикрепляющиеся к наночастицам — это альбумин, иммуноглобулины, факторы комплемента, фибриноген и аполипопротеины. Также установлено, что белки и другие органические вещества увеличивают растворимость наночастиц (например, ZnO, медь).

Следующий этап взаимодействия наночастиц металлов с клетками – это непосредственно контакт с их биологическими мембранами, который нередко заканчивается захватом первых внутрь клетки с помощью ряда механизмов. Существует минимальный радиус частицы, при котором она может быть захвачена внутрь клетки, и «оптимальный» радиус, при котором захват происходит с максимальной эффективностью. Для сферических и цилиндрических частиц такие оптимальные размеры равны 15 и 30 нм, соответственно. Пути и взаимодействия наночастиц после того, как они попадут внутрь клетки, изучены пока довольно слабо, хотя это и представляет огромный интерес в смысле направленной доставки лекарств в клетку. Не очень понятно и как клетка выбирает конкретный путь захвата: это может быть фагоцитоз, пиноцитоз или эндоцитоз, причём этот выбор зависит как от клетки, так и от параметров частицы.

Актуальным остается вопрос о характере взаимодействия и влияния наночастиц на биологические клетки. При применении наноматериалов возникает опасность возникновения токсических эффектов в живых системах. Томас Вебстер (Thomas J. Webster) [1] в своей книге приводит результаты исследований на цитотоксичность различных наночастиц, таких как квантовые точки или полупроводниковые нанокристаллы, наночастицы металлов (золота и серебра) и флуоресцентные наночастицы кремния. Изучено влияние различных механико-физических параметров на токсичность наночастиц, а именно изменение размера, влияние модификации поверхности наночастиц, постпокрытия наночастиц. Кроме того, степень токсичности наночастиц может зависеть от клеточной линии.

Одним из способов изучения влияния наночастиц на биологические клетки является метод количественной оценки механических характеристик, в частности, определение изменения модуля упругости клеток после инкубации их с наночастицами. В связи с этим была определена цель проводимого исследования.

Целью настоящих исследований было изучение взаимодействия наночастиц серебра с перевиваемой культурой клеток почки теленка МДБК с помощью атомно-силовой микроскопии.

Материалы и методы. Объектом исследований служили наночастицы серебра, полученные в ГНУ «Институт физики твердого тела и полупроводников» НПЦ НАН Беларуси по материаловедению. Оптимальный размер частиц был выбран в диапазоне 5-50 нм. Было достигнуто то, что суспензия наночастиц была устойчива по отношению к образованию конгломератов и седиментации (оседанию) путем добавления поверхностно активных веществ и водорастворимых полимеров. Также использовалась дисперсионная среда, совместимая с физиологическими жидкостями организма животного.

В основе метода получения коллоидного раствора наночастиц серебра были положены реакции осаждения серебра из нитрата, стабилизация полученных металлических частиц различными добавками. Управление размерами частиц достигалось варьированием концентрации восстановителя, стабилизирующих добавок, а также добавок, влияющих на вязкость раствора. Полученные растворы хранятся без заметной седиментации в течение 2 суток. Увеличить срок хранения до практически не ограниченного времени можно, охладив раствор до температуры ниже 3 градусов Цельсия [6].

Для получения образцов клеток, пригодных для АСМ-исследования, применяли химическую фиксацию. Для этого к культуре клеток добавляли раствор наночастиц серебра и инкубировали их в течение 20 минут. В данном эксперименте применялся раствор наночастиц, разведенный 1:5 (100 мг/мл) раствором Хэнкса. После клетки отмывали фосфатным буфером от раствора наночастиц и добавляли 1,5% раствор глутарового альдегида на 30 мин. Затем клетки отмывали дважды фосфатным буфером, дважды дистиллированной водой, высушивали на воздухе при комнатной температуре [5].

Изучение взаимодействия наночастиц цинка проводили в лаборатории нанопроцессов и технологий ГНУ «Институт тепло и массообмена им. А.В. Лыкова» НАН РБ при помощи атомно-силового микроскопа (АСМ) - NT-206 (ОДО «Микротестмашины», Беларусь) в контактном режиме. Были

Результаты исследований.

Проведены исследования топографии поверхности клеток MDBK методом атомно-силовой микроскопии. На рисунке 1 представлены 3-мерное изображение и топография поверхности клетки линии MDBK, полученные с помощью атомно-силового микроскопа. Были получены следующие изображения топографии поверхности клеток MDBK до инкубации их с наночастицами (рис. 32).

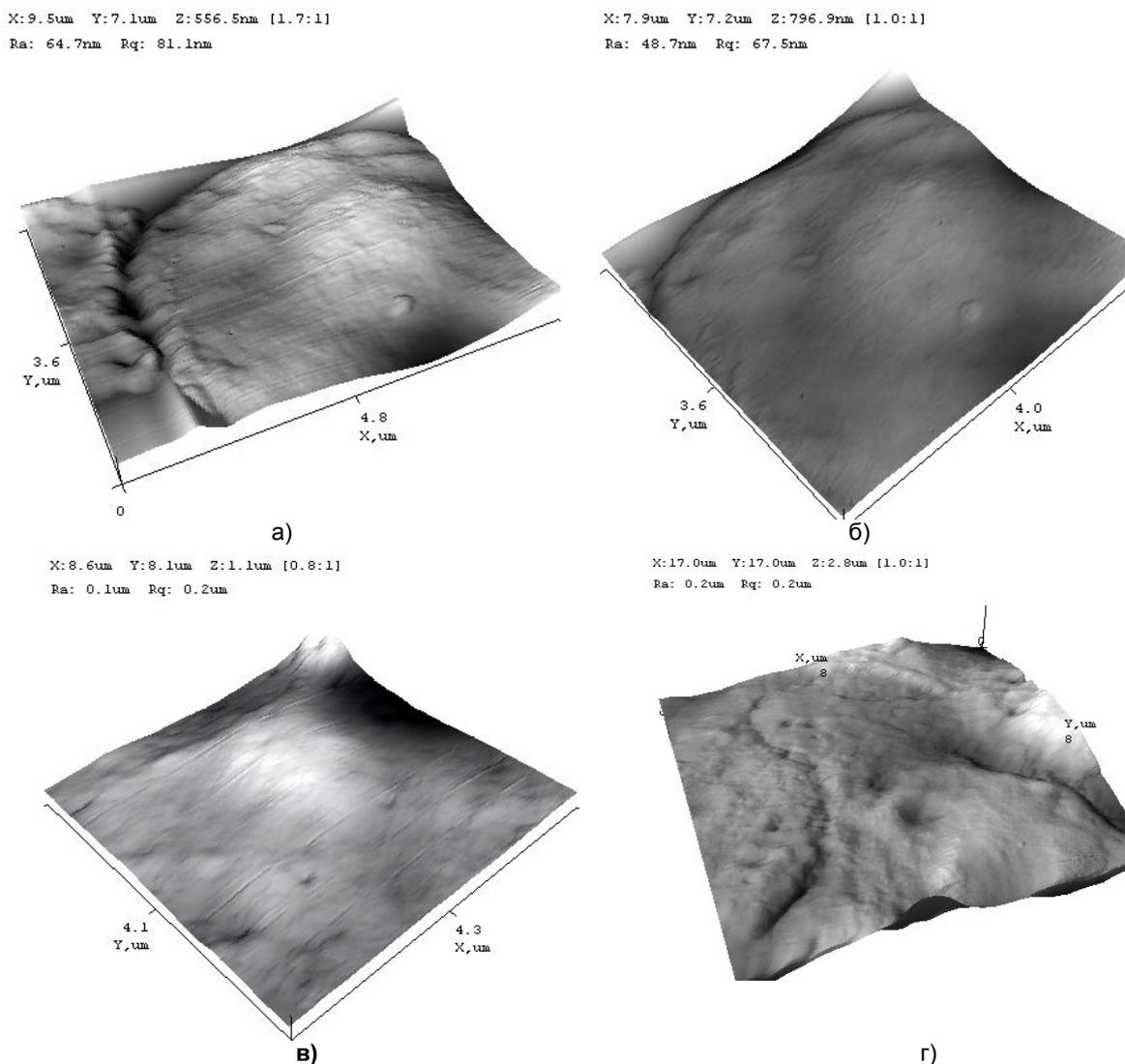


Рис. 32. Трехмерное АСМ-изображение поверхности культуры клеток MDBK до инкубации их с наночастицами серебра: а - область сканирования 9,5x7,1 мкм²; б - область сканирования 7,9x7,2 мкм²; в - область сканирования 8,6x8,1 мкм²; г - область сканирования 17x17 мкм².

Как видно из рисунка 32, поверхность клеток ровная, без явно выраженных выступов, впадин и пор. Ниже представлены изображения клеток после 20 минут инкубации с наночастицами нитрита серебра (рис. 32,33).

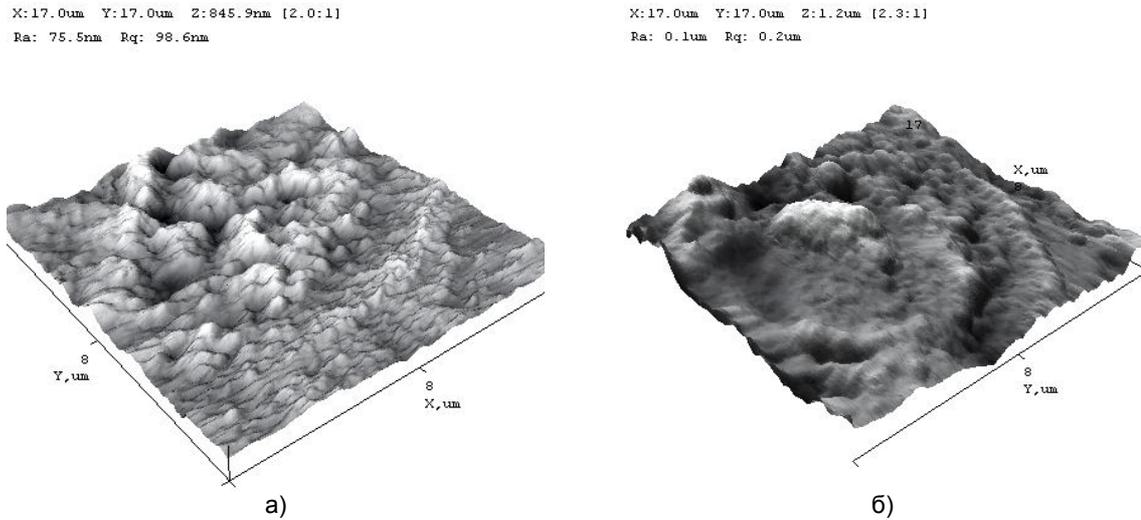


Рис. 33 Трехмерное АСМ-изображение поверхности клеток почки быка после 20 мин инкубации их с наночастицами серебра: а - область сканирования 17x17 мкм²; б - область сканирования 17x17 мкм²;

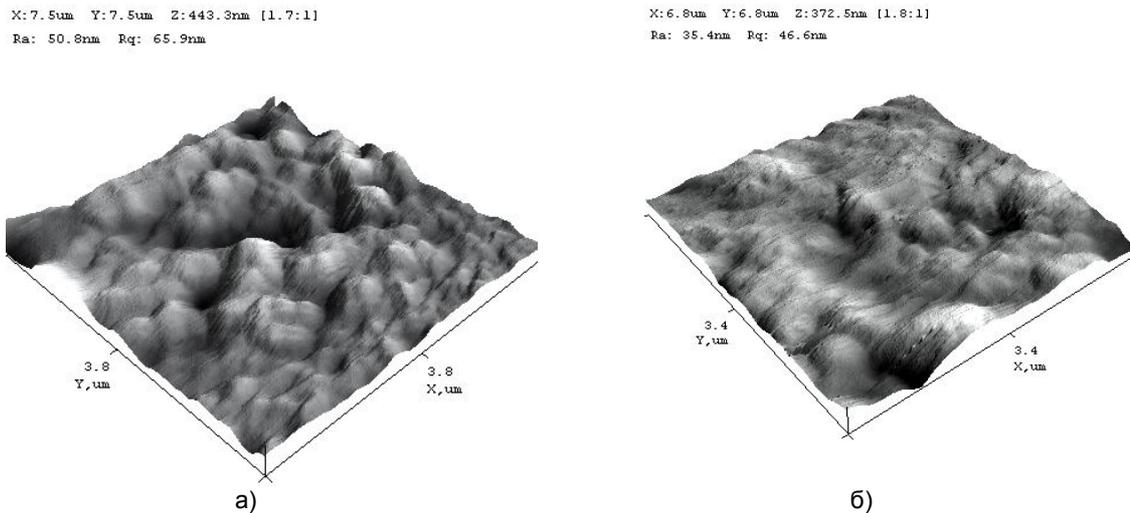


Рис. 34. Трехмерное АСМ-изображение поверхности клеток MDBK после 20 мин инкубации их с наночастицами серебра: а - область сканирования 7,5x7,5 мкм²; б - область сканирования 6,8x6,8 мкм²

На рисунках 32,33 можно заметить, что поверхность клеток сильно изменилась. В данном случае можно предположить, что наночастицы проникли в клетку и сильно деформировали ее поверхность.

На рисунке 2-3 наблюдаются образования на поверхности клетки, средним размером 349 нм. Можно сделать предположение, что это и есть наночастицы серебра, причем часть из них не проникла внутрь клетки, а осталась на ее поверхности. Ниже на рис. 4 представлен профиль наночастицы на поверхности клетки.

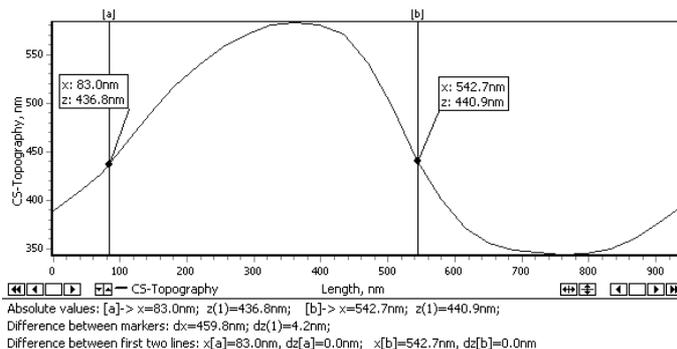


Рис. 35. Изображение профиля сечения наночастицы на поверхности клетки

Далее с помощью атомно-силового микроскопа были изучены упругие характеристики клеток, которые показали, что проникновение наночастиц серебра внутрь клеток увеличивает их упругость. Расчет модуля упругости показал, что модуль упругости клеток почки быка (контрольный образец) равен $E = 6,92$ МПа, а через 20 мин инкубации их с наночастицами серебра модуль упругости составил $E = 9,56$ МПа.

В таблице 41 приведены оценки модуля упругости клеток до и после воздействия наночастиц

Таблица 41

Значения модуля упругости клеток почки быка до и после инкубации с наночастицами серебра

Название	E, МПа	Сравнение значений модуля упругости по группам	
		Ag	контроль
Контроль	6.92±0.36		
Ag	9.56±0.68		<0.001

Значение модуля упругости клеток контрольного образца ниже, чем у клеток после воздействия растворов наночастиц серебра, при этом после воздействия оксида цинка модуль упругости клеток уменьшается.

Но не стоит забывать, что цитотоксичность может зависеть не только от физической природы, способа получения, размеров, структуры наноразмерных частиц, но и от биологической модели, на которой проводятся испытания.

Так или иначе, современная наука на данном этапе знает о процессах, протекающих в живых организмах при участии наночастиц, очень мало. И комплексный подход к этой проблеме подразумевает выработку общих принципов и универсальных характеристик, показывающих механизм взаимодействия наночастиц с биомолекулами.

Литература. 1. Thomas, J. Webster Safety of Nanoparticles / J. Thomas // Spring. – 2009. – 239 с. 2. Гусев, А.И. Словарь нанотехнологических и связанных с нанотехнологиями терминов / А.И. Гусев, А.А. Саранин, // [Электронный ресурс]. – 2009–2011г. – Режим доступа: <http://thesaurus.rusnano.com/wiki/article535>. – Дата доступа: 26.11.2011. 3. Кравченко, Н. С. Методы обработки результатов измерений и оценки погрешностей в учебном и лабораторном практикуме / Н.С. Кравченко, О.Г. Ревинская // Яндекс. Народ. [Электронный ресурс]. – 2011. – Режим доступа: <http://ogrevinskaya.narod.ru/LabMethods.pdf>. – Дата доступа: 22.11.2011. 4. Российский электронный наножурнал // ООО «Парк-медиа» [Электронный ресурс] – 2007-2008. – Режим доступа: <http://www.nanorf.ru/> – Дата доступа: 22.11.2011. 5. Сергеев, Г.Б. Нанохимия: учеб. пособие / Г.Б. Сергеев // Университет книжный дом. – Москва, 2006. – 334с. 6. Сайт Биомолекула [Электронный ресурс]. –2011. – Режим доступа: <http://biomolecula.ru/techno/> – Дата доступа: 22.11.2011.

Статья передана в печать 03.09.2012 г.

УДК 633.367:632.4

АКТИВАЦИЯ ЛЕКТИНОВЫХ БЕЛКОВ ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ ФИТОПАТОГЕННЫМ ГРИБОМ *COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIODES*

*Кубарев В. С., ** Коваленок Ю.К.

*РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию», г. Жодино, Республика Беларусь

** Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Инфицирование растений узколистного люпина сортов Эдельвейс, Rancher, Marri, Wonga, Tanjil и Миртан фитопатогенным грибом Colletotrichum gloeosporiodes вызывает значимое ($P \leq 0,05-0,001$) возрастание геммагглютинирующей активности содержащихся в листьях лектинов по сравнению с неинфицированным контролем.

Infection of plant blue lupine varieties Edelweiss, Rancher, Marri, Wonga, Tanjil and Myrtana phytopathogenic fungus Colletotrichum gloeosporiodes is significant ($P \leq 0,05-0,001$) increase hemagglutinating activity in the leaves of lectins compared to uninfected control.

Введение. В условиях Республики Беларусь при производстве зернобобовых культур все больше значение приобретает люпин. Данная сельскохозяйственная культура обладает высоким содержанием белка в семенах, высокой азотфиксацией, а также способна произрастать в условиях умеренно-континентального климата. Согласно принятой систематике род *Lupinus* включает около 200 видов, произрастающих в разных почвенно-климатических условиях. Однако сдерживающим фактором широкого внедрения этой культуры в сельскохозяйственное производство Республики Беларусь является восприимчивость сортов люпина к антракнозу, при эпифитотиях которого полностью гибнут его посевы [6].

К настоящему времени накоплен большой фактический материал об индукции в разных растительных объектах в ответ на инфицирование вирусами, бактериями и грибами синтеза многих PR-белков, в состав которых входят хитиназы, пероксидазы, туматинподобные белки, протеиназы, лектиновые белки [1]. Особый интерес представляет последняя группа белков - лектины. Лектины - это белки, не относящиеся к классу иммунных и ферментных, способные к обратимому связыванию с

углеводной частью гликоконъюгатов без нарушения ковалентной структуры любых из узнаваемых гликозильных лигандов. В основе образования комплекса лектин-гликолиганд лежит явление комплементарности, т.е. пространственного соответствия молекул лектина и углеводного детерминанта друг другу. Исследователями было установлено, что многие лектины ингибируют прорастание спор фитопатогенных грибов, проявляя, таким образом, антифунгальные свойства [8].

Данные, касающиеся разнообразных лектинов в защите растений от патогенов, со всей убедительностью свидетельствуют о том, что эти белки, благодаря специфичности углеводным компонентам клеточных поверхностей фитопатогенов, могут играть важную роль в цепи формирования защитных реакций растений при инфицировании.

В последние десятилетия все люпиносеющие страны мира столкнулись с опасной проблемой – антракнозом (ожоговой пятнистостью), которая ежегодно существенно снижает урожайность семян и зеленой массы, а в эпифитотийные годы полностью уничтожает посевы люпина. Республика Беларусь в этом плане не является исключением, антракноз люпина, вызываемый грибами *Colletotrichum gloeosporioides*, широко распространен [2].

Таким образом, изучение изменения активности лектинов растений люпина узколистного в результате инфицирования фитопатогенным грибом *Colletotrichum gloeosporioides* является актуальным и производственно значимым.

Материалы и методы исследований. В качестве объекта исследований использовались устойчивые к антракнозу сорта узколистного люпина, выведенные в США и Австралии (Rancher, Marri, Wonga, Tanjil), а также сорт белорусской селекции Миртан. Контролем выступал не устойчивый к фитопатогенному грибу *Colletotrichum gloeosporioides* сорт Эдельвейс. Кроме того, дополнительным контролем служили растения сои (сорт Вилия), так как они не инфицируются расами указанного гриба, вызывающего антракноз люпина.

Биологическая активность исследуемых лектиновых белков устанавливалась по интенсивности реакции между лектинами и эритроцитами тест-системы. Данная реакция комплексообразования, в которой ядром комплекса выступают молекулы лектиновых белков, выделенных из люпина узколистного, проводилась путем постановки серологической реакции гемагглютинации. В качестве лигандов в вышеуказанной реакции использовали стабилизированные эритроциты крупного рогатого скота (эритроцитарная тест-система) в концентрации форменных элементов $12,4 \cdot 10^{12}/л$. Подсчет количества эритроцитов в приготовленной тест-системе проводили посредством использования камеры с сеткой Горяева.

Забор цельной крови крупного рогатого скота для получения эритроцитов тест-системы проводился у клинически здоровых животных с соблюдением правил асептики и антисептики из яремной вены в стерильную пробирку с гепарином (2,0-2,5 Ед/мл). Из крови были получены стабилизированные эритроциты по общепринятой методике. Для повышения чувствительности эритроцитарной тест-системы использовались эритроциты, стабилизированные трипсином, это обеспечивает их сохранение довольно длительное время и препятствует образованию сгустков, вызванных самоагглютинацией. Применение эритроцитарной тест-системы позволяет выявлять взаимодействие лектинов люпина с эритроцитами крови в концентрации лектина 0,4 мкг/мл [4,7].

Активность всех исследуемых лектиновых белков определяли по общепринятой методике [7]. Количество белка определяли по методу Кьельдаля.

Семена исследуемых образцов были высажены в двух вариантах, опытном и контрольном:

1 – семена, предварительно инфицированные спорами и мицелием гриба *Colletotrichum gloeosporioides* - опытный,

2 – семена, не инфицированные спорами и мицелием гриба *Colletotrichum gloeosporioides* - контрольный.

В фазе появления первых настоящих листьев, а также во время цветения от растений был взят органический материал – листья для определения комплексообразующей активности в них содержащихся лектиновых белков. Экстракция лектинов из листьев проводилась водно-солевым методом [4]. Лектиновые белки, полученные в результате экстракции в дальнейшем, были исследованы на комплексообразующую активность с применением эритроцитарной тест-системы.

Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью специальных программных 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. Проверка нормальности распределения вероятности количественных признаков осуществлялась также с помощью критерия Колмогорова и критерия Шапиро-Уилки. Применение указанных критериев показало, что более 80% всех количественных признаков в группах сравнения не имели нормального распределения. Поэтому для сравнения центральных параметров групп использовались непараметрические методы: дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса с ранговыми метками Вилкоксона и критерий Ван дер Вардена, а также медианный критерий. Для всех количественных признаков в сравниваемых группах проводилась оценка средних арифметических (M) и среднеквадратических (стандартных) ошибок среднего (m) и 95% доверительного интервала (95% ДИ) выборочных средних.

Результаты исследований. Проведенные исследования показали, что в случае инфицирования растений люпина узколистного патогенными расами гриба *Colletotrichum gloeosporioides*, вызывающего антракноз люпина, лектины, выделенные из листьев таких инфицированных растений, увеличивают свою комплексообразующую активность, активно реагируя с углеводными детерминантами эритроцитов тест-системы, образуя при этом стабильные эритроцитарные агрегаты.

В таблице 1 представлены данные по изменению комплексообразующей (гемагглютинирующей) активности лектинов на разных стадиях роста растений люпина в зависимости от его сорта и контакта с возбудителем антракноза.

Таблица 42

Изменение комплексообразующей активности лектинов в результате инфицирования грибом *Colletotrichum gloeosporioides*, M±m,P

№ п/п	Исследуемые образцы	Фаза первых настоящих листьев		P (НИ – И)	Фаза бутонизации		P (НИ – И)
		Растения			Растения		
		НИ	И		НИ	И	
1	Эдельвейс	2,2±0,6	2,9±0,6	–	2,8±0,6	3,8±0,2	–
2	Rancher	20,6±1,3	34,4±3,6	***	23,6±1,3	41,2±3,2	***
3	Marri	14,6±1,2	21,6±2,7	*	17,3±1,2	23,8±2,3	**
4	Wonga	17,8±0,9	22,9±1,9	*	19,7±0,9	27,5±1,8	***
5	Tanjil	18,1±1,7	24,2±2,1	**	21,1±1,7	28,7 ±2,9	*
6	Миртан	3,2±0,4	3,4±0,8	–	4,5±0,4	4,9±0,7	–
7	Соя Вилия	21,7±2,8	21,7±2,9	–	21,0±2,8	21,6±2,4	–

Примечание: 1) НИ – не инфицированные растения; И – инфицированные растения;

2) – «P (НИ-И)» – результаты проверки гипотезы о равенстве межгрупповых средних у сортов между не инфицированными и инфицированными растениями посредством оценки значения параметрического F-критерия Фишера и непараметрических критериев Ван дер Вардена, Краскала-Валлиса и медианного критерия; 3) *, **, *** – P ≤ 0,05, 0,01, 0,001 – соответственно.

Фаза бутонизации является очень важным этапом в жизни созревающего растения, так как именно на этом этапе происходит формирование генеративных органов и подготовка организма растения к дальнейшему размножению. Согласно данным исследователей, в эту фазу у растений в зависимости от видовой принадлежности происходит как увеличение синтеза PR-белков, так и стабилизация этого синтеза. Также отмечено, что в некоторых случаях наблюдается уменьшение концентрации или активности хитинузнающих лектинов, хитиназ и других белков, выполняющих защитные функции [9].

При изучении изменения активности лектинов в стадии бутонизации люпина узколистного было отмечено, что их активность у неинфицированных и инфицированных растений неодинакова. Для каждого из вариантов наблюдается некоторое увеличение активности лектинов по сравнению с предыдущей фазой (табл.1). Однако активность лектинов в опытной и контрольной группах различалась значительно (P ≤ 0,05-0,001), и снижения активности лектинов у опытных растений не наблюдалось, наоборот, она возрастала. На наш взгляд, это можно объяснить усилением их синтеза *de novo*. Так как лектины способны к переключению функций и кроме защитных свойств также участвуют в переносе веществ по флоэме, можно предположить, что увеличение активности белков лектинового типа необходимо растению для обеспечения формирующихся бутонов дополнительными питательными веществами, а также в защите от насекомых – вредителей и возбудителей болезней. Таким образом, увеличенная активность лектинов в формирующихся бутонах, в свою очередь, будет способствовать нормальному созреванию семян.

Результаты проведенных нами исследований показывают, что максимальное увеличение активности лектинов по достижении растениями фазы бутонизации вновь наблюдалось у люпинов зарубежных сортов. Как и в предыдущих случаях, самыми активными лектинами были лектины сорта Rancher, выведенного селекционерами США, активность которых у неинфицированных растений в эту стадию роста балансировала в 95% ДИ от 21,06 до 26,14 ЕА/50 мкл. Кроме того, высокой (19,7-21,1 ЕА/50 мкл) активностью обладали лектины контрольных растений таких австралийских сортов, как Wonga и Tanjil.

Лектины контрольных (неинфицированных) растений сортов белорусской селекции на стадии бутонизации имели значимо (на 77-86%) более низкую комплексообразующую активность, которая для сорта Миртан лежала в 95% ДИ от 3,72 до 5,28 ЕА/50 мкл, а для сорта Эдельвейс от 1,63 до 3,97 ЕА/50 мкл.

Отмечено, что активность лектинов опытных растений значимо (0,05-0,001) отличалась от контрольных. Важным является то, что в фазу бутонизации лектины инфицированных растений люпина имели более высокую активность по сравнению с таковой на стадии первых настоящих листьев.

Лектины листьев как изучаемых образцов люпина, так и листьев сои активно вызвали гемагглютинацию эритроцитов тест-системы. Однако гемагглютинирующая активность лектинов значительно колебалась в зависимости от сорта. Полученными результатами вновь отмечено, что наиболее активными гемагглютиниными показали себя лектины экстракта из листьев люпина сорта Rancher. Его гемагглютинирующая активность по сравнению с неинфицированным контролем возросла до 95% ДИ 34,9-47,47 ЕА/50 мкл. Лектины сорта Wonga на стадии бутонизации у инфицированных также увеличили свою активность до 95% ДИ от 23,9 до 31,0 ЕА/50 мкл. Лектины других сортов на этой стадии роста растения также были более активны, но их активность возросла не столь значимо.

Следует отметить, что такие сорта люпина узколистного, как Rancher, Marri Wonga, Tanjil согласно характеристикам сортов являются устойчивыми к возбудителю антракноза люпина – грибу *Colletotrichum gloeosporioides*. Нами в настоящей работе была выявлена высокая комплекссообразующая активность лектинов листьев этих сортов. Причем инфицирование растений вызывало заметную активацию лектинов.

В то же время такие сорта, как Эдельвейс и Миртан, не устойчивы к антракнозу, и нами обнаружено, что комплексобразующая активность их лектинов очень низкая. Даже в случае инфицирования растений грибом *Colletotrichum gloeosporioides* она значительно не увеличивается.

Исходя из этого, можно предположить, что активность лектинов люпина и устойчивость его сортов к антракнозу находятся в прямой зависимости.

Заключение. В результате проведенных исследований выявлено, что в ответ на инфекцию практически у всех растений люпина происходит значимое увеличение активности лектинов. Наиболее активными являются лектины листьев сортов Rancher, Wonga и Tanjil, наименее активны – лектины люпина сортов Миртан и Эдельвейс.

В настоящее время функция фитолектинов в ответе растения на воздействие фитопатогена неясна, однако экспериментально полученная значимая активация белков данного класса в ответ на инфицирование растения позволяет предполагать важную роль фитолектинов в защите организма растений люпина от патогенов.

Литература. 1. Валуева, Т. А. Роль ингибиторов протеолитических ферментов в защите растений/ Т.А. Валуева // Успехи биологической химии. – 2002. – Т.42. – С.193–216. 2. Евсиков, Д.О. Антракноз люпина и его вредоносность / Д.О. Евсиков // Защита растений : сборник научных трудов / Белорусский научно-исследовательский институт защиты растений. – Минск, 2000. – Вып.19/23. – С. 128-136. 3. Игнатов, В.В. Углеводоузлающие белки - лектины/ В.В. Игнатов// Соросовский образовательный журнал. – 1997. – № 2.– С.14–20. 4. Корсун, В.Ф. Фитолектины – руководство по клинической фитотерапии : учеб. пособие для вузов / В.Ф. Корсун, В.М. Лахтин, Е.В. Корсун. – М.: Высш.шк., 2007.– 273 с. 5. Кубарев, В.С. Изучение реакции агглютинации лектинов зерновых и бобовых культур с микроорганизмами - возбудителями желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных. / В.С. Кубарев, М.П. Шишлов // Известия Национальной Академии Наук, –2006.– № 5 (доп. выпуск).– С.105–107. 6. Купцов, Н.С. Потенциал люпина заслуживает более пристального внимания /Белорусское сельское хозяйство// Н.С. Купцов, И.И.Борис, 2009. – № 2. – С.40-41. 7. Луцки, М.Ф. Лектины/ М.Ф. Луцки, Е.Н. Панасюк, А.Д. Луцки// Львов: Вища школа, 1981. – 150 с. 8. Шакирова, Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция/ Ф.М. Шакирова.– Уфа: Гилем, 2001. – С.24-31. 9. Шакирова, Ф.М. Современные представления о предполагаемых функциях лектинов растений/ Ф. М. Шакирова, М. В. Безрукова// Журнал общей биологии, 2007. – Т. 68. – № 2, Март-Апрель. С. 109-125.

Статья передана в печать 19.09.2012 г.

УДК 619:616.72-002-022.6:615.37:636.5:611.018.5

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ РЕОВИРУСНОГО ТЕНОСИНОВИТА

Лазовская Н.О., Прудников В.С.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

В статье приведены данные о влиянии иммунизации цыплят-бройлеров против реовирусного теносиновиита отечественной вакциной на морфологические показатели крови.

This article presents data on the effect of immunization of broiler chickens against reovirus tenosynovitis of national vaccine on the morphological parameters of blood.

Введение. В настоящее время промышленное птицеводство в Республике Беларусь является одной из наиболее развивающихся отраслей сельского хозяйства.

Птицеводство в республике развивается в соответствии с Программой развития птицеводства в Республике Беларусь на 2011–2015 годы, которая нацелена на полное удовлетворение потребностей внутреннего рынка страны в яйце и мясе птицы, минимизацию импортных закупок и реализацию экспортного потенциала.

Кроме того, в соответствии с Государственной программой развития производства ветеринарных препаратов на 2010–2015 годы планируется завершить к 2015 году создание производства отечественных биологических, фармацевтических и диагностических ветеринарных препаратов и обеспечить потребности в них птицеводства до 80 процентов [5].

Как известно, в настоящее время производство мяса птицы сосредоточено на крупных специализированных предприятиях, мощности которых позволяют осуществить единовременную посадку миллиона и более голов. Это, в свою очередь, создает определенные трудности в соблюдении принципа «все пусто — все занято», приводит к сокращению санитарных разрывов. К тому же зачастую стада комплектуются привезенной из-за границы птицей с недостаточной либо недостоверной информацией о ее происхождении. На фоне нарушений в кормлении и содержании, несоблюдения ветеринарно-санитарных правил и неизбежности технологических стрессов происходит угнетение иммунной системы птицы и снижение резистентности ее организма, что приводит к активизации возбудителей инфекционных болезней различной этиологии. К таким заболеваниям относят реовирусную инфекцию птиц.

Реовирусы птиц впервые были выделены в 1954 году J.E. Fahey и J.F. Crawley из респираторного тракта цыплят с хроническим респираторным синдромом. В дальнейшем, в 1957г. Olsen и соавт. выделили реовирус от цыплят, пораженных синовитом, и эти поражения не были связаны с микоплазмами [7]. Реовирусы считают причиной многих патологических состояний, таких как артрит/теносиновит, малабсорбционный синдром, перикардит, миокардит, панкреатит, иммуносупрессия, хронический респираторный синдром. Однако многие из этих симптомов описаны и при заболеваниях, связанных с возбудителями других вирусных и бактериальных инфекций. Исключением является вирусный артрит или теносиновит, при котором этиологическое и патогенетическое значения вируса доказаны полностью [1, 6].

Реовирусная инфекция (теносиновит кур, вирусный артрит) – контагиозное заболевание, проявляющееся хромотой, связанной с воспалением сухожилий и суставов конечностей, высокой ранней смертностью, плохим ростом, снижением яйценоскости и выводимости цыплят. При хроническом течении болезнь сопровождается разрывом сухожилий голени и эрозиями суставных хрящей. Впервые заболевание зарегистрировано в 1957г в США [2, 3, 4].

Чаще всего вирусный артрит встречается у цыплят мясного направления, но может встречаться и у кур-несушек, а также индеек [7].

Вирус, вызывающий данное заболевание, является иммуносупрессором, что, в свою очередь, ведет к снижению способности иммунной системы цыплят адекватно отвечать на последующие вакцинации против других вирусных инфекций. Вследствие снижения иммунного статуса возникают благоприятные условия для развития сопутствующих инфекций, которые трудно поддаются лечению [1,8]. Реовирусы чрезвычайно контагиозны для цыплят раннего возраста. Восприимчивость птиц к вирусу зависит от возраста, условий кормления, ухода, содержания и вирулентности возбудителя. Наиболее чувствительны суточные цыплята. С возрастом устойчивость цыплят к вирусу увеличивается. Отмечается длительное вирусоносительство, вирус удавалось выделить от птиц через 289 сут. после заражения [2].

Реовирусный теносиновит вызывает большинство эпизоотических штаммов реовируса. Дифференцированные 11 серотипов реовирусов имеют общий группоспецифический антиген, выявляемый в ИФА, РСК, РДП, РН [2].

Экономические потери при реовирусных инфекциях связаны с повышенной летальностью, увеличением вынужденной выбраковки птицы, отставанием в росте, а именно снижением прироста живой массы и повышением конверсии корма [7]. В племенных хозяйствах снижается половая активность петухов, что приводит к снижению оплодотворяемости инкубационных яиц [1].

В настоящее время профилактика реовирусной инфекции цыплят производится путем вакцинации родительского поголовья. В Республике Беларусь птицефабрики, выращивающие родительское стадо, также вакцинируют птицу против данной болезни по различным схемам вакцинами зарубежного производства. В соответствии с Государственной программой развития производства ветеринарных препаратов на 2010–2015 годы сотрудниками РУП «Институт экспериментальной ветеринарии» г. Минск разработана сухая живая вакцина против реовирусного теносиновита цыплят.

Материалы и методы исследований. Целью наших исследований явилось изучение влияния отечественной сухой живой вакцины против реовирусного теносиновита цыплят на морфологические показатели крови цыплят-бройлеров вакцинированных в разном возрасте. Для реализации поставленной цели нами было сформировано 3 группы птиц. Цыплятам первой группы (15 голов) в суточном возрасте вводили вакцину внутримышечно в верхнюю часть внутренней стороны бедра в дозе 0,2 мл/гол, цыплятам второй группы (20 голов) – в возрасте 7 суток, а птица третьей группы (20 голов) служила контролем. На 7-й, 14-й и 21-й дни после иммунизации проводили убой пяти цыплят из каждой группы методом декапитации с одновременным забором крови для проведения морфологических исследований. В периферической крови опытных цыплят определяли:

- содержание гемоглобина на ФЭК-М по Дервису Г.В. и Воробьеву А.И. (1959);
- количество эритроцитов на ФЭК-М;
- содержание лейкоцитов и тромбоцитов по Болотникову И.А. и Соловьеву Ю.В. (1980);

Лейкограмму выводили путем подсчета 100 клеток, окрашенных по методу Романовского-Гимза. Дифференцировку Т- и В-лимфоцитов проводили с учетом размера клеток, величины ядра и цитоплазмы, а также степени выраженности перинуклеарной зоны.

Результаты исследований. Нами было установлено, что на 7-й день после вакцинации в периферической крови цыплят 1-й и 2-й групп, по сравнению с контролем, происходило достоверное увеличение количества лейкоцитов и тромбоцитов. Так число лейкоцитов у птицы 1-й группы составляло $37,64 \pm 1,23 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,01$), тромбоцитов – $78,38 \pm 2,51 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$), а у цыплят 2-й группы $38,71 \pm 1,62 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,01$) и $80,43 \pm 2,77 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,01$), соответственно (таблица 1). Следовательно, количество лейкоцитов у вакцинированной птицы, по сравнению с интактной, увеличилось на 20,59% в первой группе, и на 22,78% во второй; количество тромбоцитов, соответственно, на 11,19% и 13,45%. Число эритроцитов и гемоглобина у цыплят этих групп значительно не отличалось от контроля.

Таблица 43

Морфологические показатели периферической крови у цыплят, иммунизированных против реовирусной инфекции ($M \pm m$, P)

Группы цыплят	Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	Гемоглобин, г/л
7-й день после вакцинации				
Вакцинированные экспериментальной вакциной в суточном возрасте	$3,83 \pm 0,19$ $P > 0,05$	$37,64 \pm 1,23$ $P < 0,01$	$78,38 \pm 2,51$ $P < 0,05$	$96,69 \pm 3,01$ $P > 0,05$

Вакцинированные экспериментальной вакциной в 7 суток	3,45±0,05 P>0,05	38,71±1,62 P<0,01	80,43±2,77 P<0,01	97,81±2,73 P>0,05
Контроль	3,59±0,08	29,89±1,53	69,61±3,45	103,28±3,67
14-й день после вакцинации				
Вакцинированные экспериментальной вакциной в суточном возрасте	3,75±0,33 P>0,05	36,98±1,71 P<0,05	77,93±1,73 P<0,05	97,79±1,27 P>0,05
Вакцинированные экспериментальной вакциной в 7 суток	3,91±0,47 P>0,05	37,69±1,47 P<0,01	79,83±1,27 P<0,01	98,54±1,59 P>0,05
Контроль	3,84±0,41	30,51±1,2	71,68±1,38	100,67±2,83
21-й день после вакцинации				
Вакцинированные экспериментальной вакциной в 7 суток	3,79±0,45 P>0,05	30,74±1,16 P>0,05	67,89±2,01 P>0,05	97,04±1,84 P>0,05
Контроль	3,82±0,38	31,01±1,28	65,52±1,93	99,03±2,54

Как видно из таблицы 44, в лейкограмме цыплят 1-й и 2-й групп, по сравнению с контролем, происходило достоверное увеличение относительного количества Т-лимфоцитов в 1,4 и 1,5 раза соответственно. В тоже время относительное количество В-лимфоцитов и содержание сегментоядерных псевдоэозинофилов было достоверно ниже по сравнению с контролем.

Содержание в периферической крови эозинофилов, базофилов и моноцитов у птицы 1-й и 2-й групп существенно не отличались от контроля.

Таблица 44

Лейкограмма крови цыплят, иммунизированных против реовирусной инфекции (M±m, P)

Группы цыплят	Лимфоциты		Псевдоэозинофилы		Эозинофилы	Базофилы	Моноциты	Плазм. клетки
	T-	B-	П/ядер.	Сегмент.				
7-й день после вакцинации								
Вакцинированные экспериментальной вакциной в суточном возрасте	40,58±3,11 P<0,01	12,97±0,12 P<0,05	5,62±0,08 P>0,05	30,97±3,81 P<0,05	3,71±0,21 P>0,05	2,06±0,09 P>0,05	4,09±0,11 P>0,05	-
Вакцинированные экспериментальной вакциной в 7 суток	43,82±3,19 P<0,001	11,61±0,19 P<0,01	6,21±0,10 P>0,05	29,82±2,49 P<0,01	2,98±0,1 P>0,05	1,93±0,02 P>0,05	3,31±0,12 P>0,05	0,32±0,08 P>0,05
Контроль	29,25±2,8	15,82±0,24	7,28±0,11	40,1±1,94	2,23±0,05	1,37±0,02	3,63±0,54	0,32±0,05
14-й день после вакцинации								
Вакцинированные экспериментальной вакциной в суточном возрасте	40,69±3,21 P<0,05	14,97±1,58 P>0,05	6,46±0,62 P>0,05	29,95±3,18 P<0,001	1,97±0,33 P>0,05	1,97±0,71 P>0,05	3,99±0,61 P>0,05	-
Вакцинированные экспериментальной вакциной в 7 суток	42,68±3,52 P<0,01	12,91±1,13 P>0,05	8,85±1,31 P>0,05	27,1±2,87 P<0,001	2,25±0,31 P>0,05	1,89±0,35 P>0,05	4,32±0,70 P>0,05	-
Контроль	31,49±3,01	13,58±1,18	5,61±0,87	42,57±2,89	1,28±0,25	2,49±0,87	2,98±0,55	-
21-й день после вакцинации								
Вакцинированные экспериментальной вакциной в 7 суток	32,62±3,67 P<0,01	15,27±1,40 P<0,05	5,09±0,91 P>0,05	39,51±4,01 P<0,01	1,45±0,18 P>0,05	2,27±0,03 P>0,05	3,79±0,71 P>0,05	-
Контроль	30,79±3,02	15,40±1,42	4,97±0,93	43,01±4,59	1,13±0,15	1,49±0,02	3,21±0,67	-

Аналогичная тенденция в отношении содержания лейкоцитов и тромбоцитов в периферической крови цыплят 1-й и 2-й групп отмечалась и на 14-й день после вакцинации, по сравнению с интактной птицей. Так число лейкоцитов в крови вакцинированной птицы составляло $36,98 \pm 1,71 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$) в первой группе и $37,69 \pm 1,47 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,01$) во второй; тромбоцитов, соответственно $77,93 \pm 1,73 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$) и $80,43 \pm 2,77 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,01$). Следовательно, количество лейкоцитов у вакцинированной птицы, по сравнению с интактной, увеличилось на 17,5% в первой группе и на 19,05% во второй; количество тромбоцитов, соответственно, на 8,02% и 10,21%.

Количество эритроцитов и гемоглобина в крови цыплят данных групп по-прежнему значительно не отличалось от содержания этих клеток у птицы контрольной группы.

В лейкограмме выявлялась та же тенденция, что и в предыдущий срок исследования, а именно, увеличение относительного количества Т-лимфоцитов в крови цыплят 1-й и 2-й групп, по сравнению с контролем в 1,3 раза и в 1,4 раза соответственно. В тоже время относительное количество В-лимфоцитов и сегментоядерных псевдозозинофилов у вакцинированной птицы было достоверно ниже по сравнению с контролем.

Содержание в периферической крови эозинофилов, базофилов и моноцитов у птицы 1-й и 2-й групп существенно не отличались от контроля.

На 21-й день после вакцинации количество лейкоцитов и тромбоцитов у цыплят 1-й и 2-й групп снижалось по сравнению с предыдущими сроками исследования и существенно не отличалось от контроля. Содержание эритроцитов и гемоглобина в крови вакцинированных цыплят также значительно не отличалось от таковых показателей интактной птицы.

В лейкограмме цыплят 2-й группы отмечалась тенденция к снижению количества Т-лимфоцитов и увеличению числа В-лимфоцитов по сравнению с предыдущими сроками исследования.

Содержание в периферической крови эозинофилов, базофилов и моноцитов у птицы 1-й и 2-й групп по-прежнему существенно не отличались от контроля.

Заключение. Таким образом, иммунизация цыплят-бройлеров отечественной сухой живой вакциной против реовирусного теносиновита вызывает в периферической крови соответствующие морфологические изменения, которые характеризуются достоверным увеличением количества лейкоцитов, тромбоцитов и относительного количества Т-лимфоцитов, по сравнению с интактной птицей.

Литература. 1. Алиев, А.С. Реовирусная инфекция птиц / А.С. Алиев // *Ветеринария*. – 2002. – №1. – С.53-57. 2. Бакулин, В.А. Болезни птиц / В.А.Бакулин. – Санкт-Петербурга, 2006 – с.638. 3. Вирусные болезни животных / В.Н.Сюрина [и др.] под общ.ред. В.Н. Сюрин. – Москва: ВНИТИБП, 1998 – 928с. 4. Ветеринарная вирусология / В.Н. Сюрин [и др.] под общ.ред. В.Н.Сюрин. – Москва: Агропромиздат, 1992 – 203с. 5. Программа развития птицеводства в Республике Беларусь в 2011–2015 годах. 6. Трефилов, Б. Реовирусная инфекция птицы / Б. Трефилов, В. Пругло // *Животноводство России*. – 2003. – №10. – С.32-33. 7. Rosenberger, J.K. Viral arthritis / J.K. Rosenberger // *Diseases of poultry*. – 2003. – № 11. – P. 284-295. 8. S.Leeson Broiler breeder Production / S.Leeson and J.D.Summers. - Nottingham, England: Nottingham University Press Manor Farm, 2009 – с.113.

Статья передана в печать 19.09.2012 г.

УДК 619: 616.98-085.37:636

КОМПЛЕКСНАЯ ПРОФИЛАКТИКА ТРИХОФИТИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ПРИМЕНЕНИЕМ ЖИВОЙ СУХОЙ ВАКЦИНЫ И ПРЕПАРАТА ПУЛСАЛ

Лазовский В.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Применение живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота и иммунокорректора Пулсал для комплексной профилактики болезни позволяет формировать у животных напряженный иммунитет и получить экономическую эффективность 7,5 рубля на один рубль затрат, что в 1,7 раза выше, чем применение вакцины без иммунокорректора.

The associated use of the dry alive vaccine against trichophytosis in cattle and the immune corrector Pulsal for complex prevention of the disease leads to intensive immunity and economic efficiency 7,5 rubles per 1 ruble of expenditures that is 1,7 times higher than the use of vaccine without the immune corrector.

Введение. Основным резервом роста производства продуктов животноводства является максимальное снижение заболеваемости и гибели животных, в том числе и от инфекционных болезней.

Промышленное скотоводство характеризуется концентрацией большого поголовья животных на ограниченных территориях. В этих условиях необходимо обеспечить стойкое ветеринарное благополучие животноводческих ферм и комплексов, что можно достигнуть при рациональном и своевременном проведении специфических профилактических мероприятий [1].

Дерматофитозы сельскохозяйственных животных в Республике Беларусь и других странах мира по-прежнему занимают одно из ведущих мест среди микотических болезней. Одним из опасных и распространенных заболеваний, вызванных различными видами грибов, является трихофития. В последние годы трихофития крупного рогатого скота превратилась в серьезную экономическую и социальную проблему для большинства экономически развитых государств мира, где отмечается рост как спорадических случаев, так и массовых вспышек заболевания [6]. Это заболевание представляет

экономическую и медико-социальную проблему, так как больные животные снижают количество и качество продукции, часто служат источником заражения людей. Экономический ущерб от трихофитии у телят складывается из затрат на лечение больных животных, снижения среднесуточных привесов на 12-20%, дополнительных расходов на каждое больное животное до 100 корм. ед. корма, ухудшения качества кожевенного сырья и дополнительных затрат труда ветспециалистов на проведение лечебных и профилактических мероприятий.

Согласно данным отчетности Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь с 1999 года в сельскохозяйственных организациях страны трихофития крупного рогатого скота регистрируется в виде единичных случаев, вместе с тем проведенные собственные исследования показали, что болезнь имеет более широкое распространение на животноводческих фермах и комплексах республики.

Основным возбудителем трихофитии крупного рогатого скота в Республике Беларусь является *Trichophyton verrucosum*. На долю этого возбудителя приходится от 11,7 до 61,8% всех случаев дерматофитозов, однако не исключается этиологическая роль и других возбудителей, в том числе *Trichophyton mentagrophytes* [2]. Возбудитель трихофитии во внешней среде сохраняется в зависимости от места локализации до 8-10 лет. Устойчивость возбудителя во внешней среде, длительный инкубационный период болезни усложняют работу ветспециалистов в достижении надежного оздоровления хозяйств от трихофитии. Как правило, в неблагополучном хозяйстве заболевание имеет тенденцию к стационарности.

Специфическая профилактика занимает ведущее место в комплексе мероприятий по недопущению возникновения и распространения трихофитии [5]. В Республике Беларусь прививают против трихофитии весь молодняк крупного рогатого скота общественного сектора с 30 -дневного возраста. Несмотря на широкое применение вакцин отечественного и зарубежного производства в последнее время наблюдаются участвовавшие случаи заболевания крупного рогатого скота трихофитией. Согласно литературным данным, указанные биопрепараты позволяют создать напряженный иммунитет у животных в идеальных условиях, и профилактическая эффективность достигает 90-95%, однако результаты наших исследований показывают, что после применения вакцин отмечается заболевание телят трихофитией в 4-5% случаев. Это связано со снижением иммунологической реактивности организма, обусловленным нарушением кормления, ветеринарно-санитарных и зооигиенических норм содержания животных, присутствием сопутствующих заболеваний. Снижение реактивности организма ведет к ослаблению иммунного ответа при вакцинации и созданию иммунитета недостаточной напряженности. Важной причиной такого состояния организма являются иммунные дефициты: врожденные, возрастные, приобретенные, возникающие в результате дефицита питания, недостатка белков, витаминов и микроэлементов; влияния физических факторов, длительного воздействия лекарственных веществ, повышенного расхода защитных факторов, а также иммунодепрессивного действия некоторых возбудителей инфекционных и инвазионных болезней, что приводит иногда к прорыву иммунитета. В условиях промышленного животноводства на организм животных воздействуют стресс – факторы химического, физического, биологического, технологического и кормового происхождения [4].

Перспективным направлением с целью повышения иммунологической реактивности организма животных является разработка методов иммунокорректирующей терапии и профилактики заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных с использованием иммунокорректоров производных бактерий и других биологически активных веществ [3].

Пулсал представляет собой водный раствор, содержащий в качестве действующего вещества химически модифицированную липидполисахариднополипептидную фракцию O-соматического антигена сальмонеллезных бактерий группы D₁, который стимулирует неспецифическую и специфическую гуморальную защиту: лизоцимную, бактерицидную активность сыворотки крови, продукцию иммуноглобулинов и цитокинов, усиливает лейкопоз, фагоцитарную активность микро- и макрофагов, образование Т- и В-лимфоцитов.

Целью наших исследований явилось изучение реактогенности и иммунологической эффективности живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота при применении препарата Пулсал.

Материалы и методы исследований. Экспериментальная работа выполнена в условиях ЗАО «Липовцы» Витебского района Витебской области, кафедры эпизоотологии и НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Для проведения исследований было сформировано 2 группы телят - по 30 в каждой. Животным первой (опытной) группы вводили живую сухую вакцину против трихофитии крупного рогатого скота и препарат Пулсал, телятам второй (контрольной) группы – вводили живую сухую вакцину против трихофитии крупного рогатого скота (производства Витебской биофабрики), применяемую в хозяйстве постоянно.

Перед иммунизацией и после нее животных тщательно осматривали ветеринарные специалисты хозяйства и сотрудники ВГАВМ. Во время проведения опытов телят не подвергали химио- и вакцинотерапии против других болезней. Вакцинированных животных содержали в изолированных станках, и каждое из них имело индивидуальный ушной номер.

Иммунизация телят обеих групп проводилась по следующей схеме: на 10-15 день после формирования производственных групп (30-45 день жизни телят) им вводили вакцину двукратно с интервалом 10 дней в дозах по 5 см³ для телят первой и второй группы, повторно вводили вакцины в тех же дозах. Животным 1-й группы подкожно применяли препарат Пулсал в дозе 5 см³, также двукратно.

Об эффективности опытной серии биопрепарата судили по следующим тестам: клиническое наблюдение за животными в течение 30 дней после иммунизации с определением общей и местной реакции организма, определения количества лейкоцитов, уровня общего белка, белковых фракций,

иммуноглобулинов, фагоцитарной активности нейтрофилов, лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови, уровня трихофитийных антител в РА, превентивных свойств сыворотки крови.

Для контроля иммунобиологических показателей у 15 телят опытной группы и 15 телят контрольной группы до и через 10 после первой и 10, 20 дней после второй вакцинации производили взятие крови.

О реактогенности вакцины с применением препарата Пулсал и состоянии иммунного ответа судили по следующим тестам: клиническому состоянию животных после иммунизации с определением общей и местной реакции организма, по гематологическим показателям и высоте титра антител в РА.

Результаты исследований. Анализ результатов исследования показывает, что через 10 дней после первой вакцинации в крови животных 1 группы увеличилось количество лейкоцитов на 21,4%, тромбоцитов - на 11,0%, альбуминов - на 1,2%, гаммаглобулинов - на 32%, фагоцитарная активность - на 4,2%, бактерицидная и лизоцимная активность соответственно на 4,6% и 7,9%.

Через 10 дней после второй вакцинации количество лейкоцитов увеличилось на 35,4%, тромбоцитов - на 46,0%, альбуминов - на 7,8%, гаммаглобулинов - на 21,1%, фагоцитарная активность - на 12,5%, бактерицидная и лизоцимная активность соответственно - на 9,9% и 17,1%. Через 20 дней количество лейкоцитов увеличилось на 5,3%, тромбоцитов - на 38,5%, количество альбуминов снизилось на 25,4%, гаммаглобулинов увеличилось на 90%, фагоцитарная активность - на 12%, бактерицидная активность и лизоцимная активность соответственно на 6,8% и 11,5%.

У животных 2 группы через 10 дней после первой вакцинации количество лейкоцитов увеличилось на 22,1%, тромбоцитов - на 6,4%, альбуминов - на 1,5%, гаммаглобулинов - на 14,6%, фагоцитарная активность - на 5,8%, бактерицидная и лизоцимная активность соответственно - на 4,7% и 4,3%. Через 10 дней после второй вакцинации количество лейкоцитов увеличилось на 26,5%, тромбоцитов - на 30%, альбуминов - на 6,4%, гаммаглобулинов - на 11,4%, фагоцитарная активность - на 13,9%, бактерицидная и лизоцимная активность соответственно - на 9,4% и 11,6%. Через 20 дней после вакцинации количество лейкоцитов увеличилось на 15,4%, тромбоцитов - на 22,8%, количество альбуминов снизилось на 15,6%, гаммаглобулинов увеличилось - на 22,9%, фагоцитарная активность - на 16%, бактерицидная и лизоцимная активность соответственно - на 7,4% и 8,5%.

Одновременно в сыворотке крови животных определяли количество антигенсвязывающих клеток в РА. Полученные результаты исследований показали, что в сыворотке крови телят 1 и 2 группы до иммунизации противотрихофитийных агглютининов не обнаруживали. Через 10 дней после первой вакцинации титр агглютинирующих антител в сыворотке крови телят обеих групп составил 1:40 - 1:80. Через 10 дней после второй вакцинации титр агглютинирующих антител в первой группе составил 1:160 - 1:320, во второй - 1:80-1:160. Через 20 дней произошло нарастание титра антител у животных первой группы до 1:320 - 1:640, во второй - до 1:160-1:320. Через 30 дней после иммунизации в сыворотке крови животных первой группы их содержание возросло до 1:640 - 1:1280, а у животных контрольной группы этот показатель составил 1:320-1:640.

В течение 30 дней после вакцинации проводили клиническое наблюдение за состоянием привитых животных. Физиологических отклонений в организме телят опытной группы не наблюдалось. Температура тела после вакцинации увеличивалась на 0,5-0,7⁰С, что не выходит за пределы физиологической нормы. Животные охотно принимали корм и воду.

Через 10-15 дней после второго введения вакцины на месте инъекции образовались локализованные поверхностные корочки диаметром 15-20 мм, которые на 20-25 день самопроизвольно отторглись и не требовали обработки лечебными средствами. У телят контрольной группы отторжение корочек происходило на 25-30 день.

Таким образом, применение живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота и иммунокорректора Пулсал для комплексной профилактики не повышает реактогенности вакцины, а позволяет сформировать у животных напряженный иммунитет и получить экономическую эффективность 7,5 рубля на один рубль затрат, что в 1,7 раза выше, чем применение вакцины без иммунокорректора.

Заключение. Проведенными исследованиями установлено, что применение живой сухой вакцины против трихофитии крупного рогатого скота и иммунокорректора Пулсал для комплексной профилактики не вызывало повышения реактогенности вакцины, отклонений со стороны функций сердечно-сосудистой системы, органов дыхания и других систем не отмечалось. На более высоком уровне стимулируется неспецифическая и специфическая гуморальная защита: лизоцимная, бактерицидная активность сыворотки крови, усиливается лейкопоз, фагоцитарная активность микро- и макрофагов, образование Т- и В-лимфоцитов. В поствакцинальный период у иммунизированных животных происходит образование противотрихофитийных антител на более высоком уровне по сравнению с применением живой сухой вакцины без иммунокорректора, а экономическая эффективность составляет 7,5 рубля на один рубль затрат, что в 1,7 раза выше в сравнении с применением одной вакцины.

Литература. 1. Аксенов А.М. Задачи ветеринарной медицины в стабильном развитии животноводства республики / А.М. Аксенов // *Современные вопросы патологии сельскохозяйственных животных : материалы междунар. Науч. - практ. конф., Минск, 23-24 октября 2003 года.* - Минск, 2003. - С. 3-6. 2. Алешкевич В. Н. К вопросу о трихофитии крупного рогатого скота // В. Н. Алешкевич, В. С. Прудников, Н. И. Лабусова // *Ученые записки ВГАВМ.* - 2000. - Т. 36. - Ч. 1. - С. 6-7. 3. Иммунология: учеб. пособие / П. А. Красочко, Ю. Н. Федоров, В. С. Прудников и др.; под ред. П. А. Красочко, Н. Д. Лисова. - Мн.: Аверсэ, 2005.-107с. 4. Лазовский, В. А. Эпизоотическая ситуация и профилактика трихофитии крупного рогатого скота / В. А. Лазовский // *Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины» : научно-практический журнал / Витебская государственная академия ветеринарной медицины ; ред. А. И. Ятусевич [и др.].* - Витебск : УО ВГАВМ, 2006. - Т. 42, вып. 2, ч. 1(июль - декабрь) - С. 118-121. 5. Разработка средств специфической профилактики инфекционных болезней животных / В.В. Максимович, В.В. Зайцев, Г.Э. Дремач и др // *Ветеринарная наука - производству: научные труды / Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси; ред. А.П. Лысенко.* - Минск, 2005. - Вып. 38: *Материалы Международной научно-практической конференции "*

Актуальные проблемы ветеринарной медицины в условиях современного животноводства", посвященной 75-летию ИЭВ им. С.Н. Вышелесского и 100-летию со дня рождения П.С. Чеботарева. - С.359-361. 6. Moretti A. ; Boncio L. ; Pasquali P. ; Piergili Fioretti D. Epidemiological aspects of dermatophyte infections in horses and cattle // J.veter.Med.Ser.B.-1998.-Vol/ 45, № 4. – P.205 – 208. et. al., 1990;

Статья передана в печать 21.09.2012 г.

УДК 619:616.1.981:45

ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ СОХРАНЕНИЯ МОЛОДНЯКА СВИНЕЙ В ОТКОРМОЧНЫХ ХОЗЯЙСТВАХ БЕЛАРУСИ

Лях Ю.Г.

Государственное научно-производственное объединение «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам»,
г. Минск Республика Беларусь

В статье отражена ситуация с эпизоотическим благополучием среди сельскохозяйственных животных Беларуси. Раскрыты проблемы, которые возникают в свиноводческих хозяйствах, специализирующихся исключительно на откорме свиней. Приведены результаты собственных исследований по разработке и применению схем ветеринарно-санитарных и зоотехнических мероприятий, направленных на сокращение непроизводительного выбытия. Указаны основные технологические моменты, влияющие на экономическую эффективность свиноводства.

Epizootic situation of farm animals in Belarus is reflected in the article. The problems that arise in the pig farms specializing exclusively in pigs fattening are disclosed. Results of our research on the development and implementation of schemes of veterinary-sanitary and zootechnical measures aimed at reducing non-productive disposal are given. The main technological aspects that affect the economic efficiency of pig production are shown.

Введение. Опыт переходного периода Республики Беларусь показывает, что в ближайшей перспективе основными производителями животноводческой продукции останутся реформированные колхозы и совхозы с образованными внутрихозяйственными структурами. Одновременно широкое распространение получают производственные кооперативы, акционерные общества, агрофирмы, фермерские и другие хозяйства. Важное значение будут иметь и личные подсобные хозяйства граждан, развитию которых должны способствовать государственные и хозяйственные органы управления. Сохранившиеся и вновь созданные в результате реформирования хозяйства будут давать основную долю товарной животноводческой продукции.

Главным остается вопрос о производстве конкурентноспособной сельскохозяйственной продукции, т.е. высококачественной, дешевой и экологически чистой.

Разведение крупного рогатого скота и свиней в Республике Беларусь являются основными направлениями развития животноводства.

Интенсификация и перевод свиноводства на промышленную основу, концентратный тип кормления способствуют повышению производства продуктов свиноводства, однако гиподинамия, стрессы, нарушение обменных процессов в организме свиней, изменение технологического цикла выращивания поросят и взрослого поголовья при несоблюдении ветеринарно-зоотехнических требований способствуют широкому распространению инфекционных болезней [1, 2].

В настоящее время эффективность свиноводства в большой мере зависит от применения новых технологий, которые обуславливают комфортное содержание свиней, что является важнейшим фактором повышения продуктивности животных в условиях промышленного содержания, как на отдельном предприятии, так и в свиноводческой отрасли в целом. Для получения высококачественной продукции свиноводства современные фермы должны отвечать большому перечню условий для содержания животных, в том числе санитарным нормам, рационам кормления, эргономическим показателям.

На современных предприятиях по выращиванию и откорму свиней одним из главных принципов, который необходимо соблюсти, является экономичность, иначе производство свинины станет не бизнесом, а постоянной проблемой государства. Поэтому при разработке концепции свиноводческого предприятия или до начала переоборудования помещения для свиней необходимо учесть широкий круг факторов, которые в конечном итоге позволят оптимизировать инвестиционные затраты и полностью использовать генетический потенциал животных, который, кстати сказать, в Беларуси достаточно высокий [3, 4].

Материалы и методы исследований. Для изучения и анализа эпизоотической ситуации использовали отчетные данные Министерства сельского хозяйства и продовольствия, а также Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Республики Беларусь. Аналитическому анализу был подвергнут цифровой материал, отражающий состояние дел по видовому составу инфекционных заболеваний, регистрируемых на территории Беларуси, количество выделенных неблагополучных пунктов, заболевших и павших животных от конкретных заболеваний. Период исследований охватывает с 2001 по 2011 год. Исследования с целью выделения патогенных микроорганизмов и установки диагноза проводили на базе ГУ "Белорусский государственный ветеринарный центр", ГВСУ «Минская областная ветеринарная лаборатория» и «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам».

Изучение и обработку рекомендаций и схем противоэпизоотических мероприятий проводили на базе РУП «МТЗ» СХЦ «Обчак» Минского района, который специализируется на откорме молодняка свиней.

Результаты исследований. Главным и основным сдерживающим фактором развития свиноводства в республике является кормовая база. Речь идет не о нескольких показательных хозяйствах, в которых давно сформированы все технологические производственные линии, начиная от структуры посевных площадей и распределения на них кормовых культур и оканчивая реализацией готовых продуктов питания в мясных отделах собственных торговых точек. Речь идет о рядовых валообразующих комплексах и свиноводческих фермах, где производится основная масса свинины.

Когда говорят о 100 - процентной обеспеченности высококачественными кормами свиноводческой отрасли, то представляется ситуация бесперебойной и регулярной поставки на все свиноводческие предприятия республики высококачественного, в прямом смысле этого слова, корма. В то же время встает вопрос, почему практически на всех свиноводческих предприятиях присутствует непроизводительное выбытие животных, которое превышает все нормативные показатели. Такой высокий процент непроизводительного выбытия поголовья происходит практически во всех половозрастных группах (включая откорм). В некоторых хозяйствах, особенно после отъема поросят от свиноматок, он достигает 65-80%.

Стопроцентная обеспеченность кормами ни о чем не говорит и не несет никакой информации. Разговор должен вестись о полноценном и качественном корме. Так как только поросята, рожденные от свиноматок, которые получали исключительно полноценные корма, в дальнейшем выращенные на таких же полноценных и качественных кормах, могут дать технологичный привес живой массы и жизнеспособное потомство. И только тогда этот молодняк способен противостоять всем условно-патогенным микроорганизмам, которые и вызывают 80% отхода, о котором говорилось ранее. Никакого открытия в этом нет, но технологии надо соблюдать, иначе свиноводство всегда будет убыточной отраслью.

Нельзя в схемы профилактических обработок свиней (особенно это касается поросят в возрасте 30-120 дней) вводить вакцины, содержащие живой или ослабленный возбудитель. Ведь иммунный фон организма поросят в большинстве свиноводческих предприятий достаточно низкий. При таком уровне кормления (за исключением единиц свиноводческих хозяйств) запрещено применение даже инактивированных вакцин. Те же самые антибиотики, которыми ветеринарные специалисты пытаются спасти положение, не оказывают лечебного эффекта, потому что макроорганизм должен сам хотя бы частично противостоять заболеванию. Тогда и антибиотики или другие лекарственные препараты будут эффективны.

Известно, что строгое соблюдение технологии на всех стадиях выращивания и откорма свиней само по себе исключает применение вакцинных и других препаратов, за редким исключением (чума, рожа), но почему-то эти технологии не выдерживаются. Рано или поздно все нарушения, недоработки и т.д. дают о себе знать.

Технологии, которые были разработаны в советские времена (следует отметить, неплохие технологии) до настоящего времени так и не внедрены. С тех пор не очень сильно изменились требования к микроклимату, кормлению и использованию сельскохозяйственных животных. Изменился разве что технический прогресс, автоматизация с применением компьютерного и роботизированного оборудования, да возрасли требования к качеству продукции.

Появились всевозможные кормовые добавки. Однако они не в состоянии восполнить 100% потребности в микро- и макроэлементах организма животных. Ведь их насчитывается десятки, а организму требуется гораздо больше наименований.

Лет 25-30 назад кормопроизводство нашей республики практически полностью обеспечивало животных качественными кормами, так как состояние и плодородие почв находилось на достаточно высоком уровне. Погоня за урожаями опустошила почву. Сейчас мы имеем корма зерновой группы, выросшей на почве с обедненным уровнем микро- и макроэлементов. Эти пропорции элементов и такие структуры практически невозможно восполнить добавками, тем более что и организм животных их не всегда способен усваивать.

Уровень гумуса в почве ежегодно снижается, т. к. азотсодержащие органические вещества (их в гумусе 94-99%) под действием микроорганизмов почвы минерализуются до минеральных форм азота и используются растениями для формирования урожая. Чем выше урожайность сельскохозяйственных культур, тем больше минерализуются азотсодержащие органические вещества, тем больше почвенного азота используется растениями для формирования урожая, тем больше снижается плодородие почвы.

В структуре пахотных земель Беларуси дерново-подзолистые почвы, которые по генезису обладают низким потенциалом плодородия, занимают 88,5%. Получение высоких и стабильных урожаев кормовых культур на них возможно только при условии достаточных доз органических и минеральных удобрений, обеспечивающих положительный баланс гумуса и основных элементов питания [5, 6].

С увеличением в почве гумуса не только увеличивается урожайность зерновых культур и окупаемость, но улучшается и качество товарной продукции. Установлено, что с увеличением содержания гумуса с 1,71 до 3,4% урожайность ячменя (сорт Эльгина) увеличилась с 18,6 до 45,5 ц/га, или в 2,4 раза, а содержание белка в зерне - с 8,4 до 12,12 %, или на 43,8 %. Важным показателем качества зерна является биологическая ценность белка, которая определяется его аминокислотным составом. А с увеличением содержания белка в зерне отмечается повышение абсолютного содержания в зерне всех незаменимых аминокислот, в т. ч. наиболее дефицитных - лизина и метионина. Как видим, от качества (пригодности) почвы для выращивания того или иного вида кормовой культуры зависит полноценность корма [7].

Интенсификация свиноводства сопряжена со значительным увеличением потребности в белковых компонентах для выработки комбикормов, обладающих наибольшим коэффициентом полезного

действия.

Вместе с тем сегодня остро ощущаем дефицит белковых компонентов, особенно животного происхождения (57%) и микробиологического синтеза (92%). Дефицит первых обусловлен узкой сырьевой базой, а также разработкой и использованием современных безотходных технологий с максимальной выработкой продуктов питания и кормов, вторых - дороговизной и экологической безопасностью.

На современном этапе, по мнению большинства специалистов, важнейшим направлением в составе мероприятий по увеличению кормового белка является возделывание зернобобовых культур. Значительное место в реализации сокращения дефицита белковых продуктов отводится сое. Соевые бобы и продукты их переработки обладают высокими кормовыми достоинствами. Основное преимущество соевых бобов и продуктов их переработки (жмыхи, шроты) заключается в характере их белков. Белки сои относятся к растительному казеину и оказывают на процессы обмена веществ в организме почти такое же влияние, как и казеин - основной белок коровьего молока. Истинная переваримость аминокислот белка сои довольно высокая и на 4,7 - 6,5% превосходит корма животного происхождения.

Большое кормовое значение имеет соевый шрот из полножировых инактивированных (термообработанных) соевых бобов. Термообработанная крупка полножировой сои в комбикормах используется как источник высококачественного белка и энергии благодаря высокому (17,0 - 20,0%) содержанию в ней жира. Жир сои богат лецитином - 3,5%, что равно его содержанию в яйце, растительными стероидами и ненасыщенными и жирными кислотами - линолевой - 50,0-55,0%, линоленовой - 6,0-10,0%, арахидоновой - 0,2-0,5%, К тому же такой жир легко, без дополнительных затрат, при поверхностном опрыскивании жировых добавок включается в необходимых количествах в состав комбикормов. Немаловажно и то, что качество жира сои значительно выше, чем в большинстве других применяемых источников [8].

Одновременно с этим соевый шрот имеет определенный срок годности и требует соблюдения определенных условий хранения. Нарушение одного из параметров влечет за собой превращение его из незаменимого составляющего комбикорма в обыкновенный ядовитый для организма продукт.

Согласно опубликованным на сайте Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 10.07.2012 данным, во 2 квартале 2012 года ГУ «ЦНИЛ хлебопродукт» провела испытания 1955 образцов продукции, из них 326 образцов комбикормов (для свиней - 131, птицы - 94, коров - 68, прочих видов - 33); 189 образцов премиксов; 384 образца кормовых добавок; белково-витаминно-минеральных добавок (БВМД) - 49; 80 образцов продукции мукомольно-крупяного производства; сырья - 927 образцов. Установлено несоответствие требованиям технических нормативных правовых актов в 104 образцах, из них: комбикормов - 34 образца, премиксов - 8, БВМД - 2, кормовых добавок - 14, сырья - 46.

Если учитывать, что третий квартал подразумевает хранение сырья для приготовления комбикормов еще в течение трех месяцев, а за этот период качество данного сырья улучшаться не будет, то можно предположить, что такая же ситуация будет и в последующий период. В результате определенный процент поголовья свиней будет получать некачественные корма, соответственно народное хозяйство Беларуси понесет определенный экономический ущерб.

Вторым сдерживающим фактором являются инфекционные и незаразные заболевания.

Свиноводческий комплекс - это совокупность интенсивного содержания высокопродуктивного скота на ограниченной площади с комплексной застройкой производственными и вспомогательными объектами на основе поточной механизации производства животноводческой продукции, с оптимальными условиями кормления, содержания и ухода за животными, со строгой санитарной защитой фермы и передовыми приемами организации индустриального труда.

При отсутствии хотя бы одного из указанных звеньев комплекс превращается в распространителя (очаг) инфекции. Поэтому пропорционально увеличению концентрации животных на ограниченной площади должны ужесточаться санитарно-гигиенические требования. Если эта закономерность не выдерживается, то животноводство становится нерентабельным. Необходима строгая санитарная защита животных на фермах и комплексах как главнейшее звено технологии промышленного животноводства.

Основная задача ветеринарных специалистов в настоящий период не должна сводиться лишь к лечению и профилактике заболеваний. Этими приемами они занимаются уже достаточно давно. Речь идет не о мелких фермах и частных подворьях, а о крупных свиноводческих комплексах, где только технологическими приемами можно решить проблему непродуцибельного выбытия животных.

Технологическое производство свинины должны курировать ветеринарные специалисты, хорошо понимающие весь цикл производства не в плане одного животного, а целого комплекса. А в этом случае лечение не предусматривается. При такой ситуации гуманизм не должен препятствовать технологической выбраковке нетехнологичных животных на любой стадии их выращивания и в любой половозрастной группе. И чем тщательней будет выбраковка, как уже указывалось (на самых ранних стадиях роста животных), тем менее затратным будет производство свинины. Некогда переболевшее, а тем более больное животное не даст технологический привес живой массы и здоровый приплод.

Отдельным пунктом в большой отрасли свиноводства в Республике Беларусь следует выделить хозяйства и отдельные организации, которые на своем балансе имеют свинофермы по откорму свиней с дальнейшей реализацией выращенной продукции.

В период Советского Союза такие свиноводческие фермы имели очень широкое распространение. Достаточно сказать, что практически во всех районных центрах дислоцировались воинские части, на территории которых размещались свиноводческие фермы, где занимались откормом поросят для собственных нужд. Приобретали их на свиноводческих комплексах и репродукторах. Кроме воинских частей, такого рода подсобные хозяйства, занимающиеся именно откормом свиней, имелись и на промышленных предприятиях всех регионов бывшего Советского Союза.

Необходимо отметить, что промышленные предприятия, имевшие подсобные хозяйства и фермы,

находились в более выгодном положении (в плане экономического обеспечения работников), так как продукция с подсобных ферм направлялась в основном в рабочие столовые предприятий, пионерские лагеря и санатории. В конечном итоге все это позволяло повышать экономическое благосостояние работников предприятий, а соответственно и экономическую стабильность страны.

Предприятия и воинские части в больших количествах приобретали молодняк свиней для дальнейшего откорма. В каждом отдельном подсобном или откормочном хозяйстве существовали свои технологические схемы, включающие возраст и живую массу поросят при закупке, типы и рационы кормления, схемы ветеринарно-санитарных обработок. По окончании периода откорма полученная продукция использовалась по усмотрению администрации организаций и коллектива, избыток продукции реализовывали на государственные мясоперерабатывающие предприятия. Весь объем полученной продукции находил отражение в отчетной документации и вносил определенный вклад в решение продовольственной программы страны.

В настоящее время ситуация несколько изменилась. Комплекс объективных и субъективных причин в последние годы поставил свиноводческие и подсобные хозяйства, занимающиеся исключительно откормом свиней, в достаточно трудное положение.

В итоге этого комплекса причин откормочные хозяйства утратили возможность регулярно приобретать для откорма здоровый молодняк свиней. В лучшем случае его просто нет, а в худшем – можно приобрести поросят, но тогда из договора, в котором оговорены условия приобретения животных, необходимо удалить слово «здоровый» и превратить откормочное хозяйство в «лазарет» для хозяйственного брака.

В настоящее время в Республике Беларусь остались единицы хозяйств, которые занимаются именно приобретением молодняка свиней и его откормом.

На примере РУП МТЗ СХЦ «Обчак» Минского района показано, как благодаря четко отработанной системе приготовления кормов, ветеринарных обработок, соблюдения технологических процессов кормления и содержания в зданиях, которые построены в 80-е годы, среднесуточные привесы живой массы поросят находятся в пределах 680-860 граммов. Достичь таких результатов в указанном хозяйстве можно было только благодаря неукоснительному соблюдению всех технологических процессов.

Большим препятствием в выполнении поставленных задач являлись конструктивные недостатки животноводческих помещений, в результате которых сложно было обрабатывать и поддерживать в технологическом ритме параметры микроклимата. Неправильно спроектированное и установленное оборудование для кормления животных, ввиду шаблонного подхода, без учета биологических особенностей животных - не использовалось. Грубейшие нарушения при проектировании системы водоснабжения приводили к проблемам поения животных. Отсутствие нормально функционирующей дренажной системы способствовало повышенной влажности в помещениях и загазованности.

Учитывая необходимость выполнения плановых обязательств по обеспечению населения Республики Беларусь, в том числе и работников тракторного гиганта МТЗ, коллектив СХЦ «Обчак» поэтапно, преодолевая определенные трудности, которые принес мировой экономический кризис, повышает эффективность производства.

Указанное хозяйство, столкнувшись с проблемой отсутствия здорового молодняка свиней для постановки на откорм, начало искать выход из создавшегося положения. Были отработаны несколько вариантов схем эффективного производства свинины. Так как создались проблемы в приобретении здоровых поросят для откорма из одного закрепленного договорными обязательствами хозяйства-поставщика (идеальный вариант), а в каждом хозяйстве всегда присутствует свой спектр возбудителей заболеваний, отработка схем противозпизоотических мероприятий, с учетом эпизоотической ситуации хозяйств-поставщиков становилась первоочередной задачей.

Как правило, все без исключения хозяйства-поставщики умалчивали и продолжают скрывать реальную эпизоотическую ситуацию своего производства. Согласно договору, в котором указывается, что животные клинически здоровые и выходят из района, благополучного по инфекционным заболеваниям, требуется только продолжение вакцинаций по отработанным схемам. Однако вопросы, с которыми сталкиваются специалисты и работники откормочных хозяйств после приобретения таких животных, гораздо сложнее.

В результате при постановке таких животных на карантин специалисты хозяйства, по причине отсутствия объективной информации об эпизоотической ситуации в хозяйстве-поставщике, остаются наедине с возникающими проблемами.

Для выхода из сложившейся ситуации специалисты РУП МТЗ СХЦ «Обчак» приобретая условно здоровый молодняк свиней, инфицированный целым спектром болезнетворных микроорганизмов, разработали свои схемы лечебных и противозпизоотических мероприятий.

На первой стадии путем проведения лабораторных исследований материала, полученного от свиней отправленных на мясоперерабатывающие предприятия, были уточнены диагнозы и выделены возбудители пастереллеза, сальмонеллеза и клебсиеллеза.

Одновременно с этим была проведена подтитровка их на чувствительность к антибиотикам. Согласно полученным данным была разработана схема, включающая антибиотикотерапию и профилактические вакцинации.

Выделенные в лаборатории возбудители инфекционных заболеваний были завезены в СХЦ «Обчак» из хозяйства-поставщика СП ЗАО «Славнефть-Агро» с приобретенными животными. Поросята закупались живой массой 20-25 кг в возрасте 60-70 дней. В СП ЗАО «Славнефть-Агро», согласно схеме профилактических мероприятий, вакцинаций против указанных болезней не проводились. Поросята, находясь со свиноматками, перезаражались и заболели. Однако ввиду того, что до продажи поросята получали достаточно полноценные корма, массовой гибели среди них не наблюдалось. Но заболевание переходило в хроническую форму. К 60-70-дневному возрасту указанные поросята в 45-60% случаев

являлись хронически больными. За этот период животные дважды испытали сильнейшие стрессовые воздействия: отъем их от свиноматок и формирование групп по 40-50 голов, кроме того, транспортировка животных грузовым транспортом на расстояние более 900 км, что также явилось стрессом. Все указанные факторы только усугубляли течение болезней. В четвертый раз приобретенные животные получают стресс при формировании групп в момент заполнения станков карантинного помещения.

Из приведенного следует, практически все животные, приобретенные для дальнейшего откорма – больные. И заболевают они в хозяйствах - поставщиках. Естественно сохранить и получить от таких животных прирост живой массы 800-900 граммов в сутки нереально.

Аналогичная картина имела место и в период приобретения поросят из ГП «Жодино Агро Племэлита» - из свинофермы «Нуклеус» Смолевичского района. Все те же самые проблемы, только в данном хозяйстве, в дополнение ко всему, животные вакцинировались вакциной из вируса РРСС.

Если учесть, что против таких заболеваний без соответствующих на то оснований животных не вакцинируют, то возможно предположить наличие данного заболевания в указанном хозяйстве. Как и в первом случае, в особых пометках ветеринарного сертификата от 28 июля 2011 года № 05- 00004567 указано, что район благополучен по остроинфекционным заболеваниям сельскохозяйственных животных, а животные, подлежащие продаже – клинически здоровы.

Не исключением, только со своим набором возбудителей инфекций, явилось и следующее хозяйство. В схему профилактических обработок и вакцинаций комплекса СПК «Першай-2003» включены более 10 вакцин, в том числе и живые. Однако при продаже животных в ветеринарном сертификате указано, что район благополучен по остроинфекционным заболеваниям, а животные здоровы.

Имея такую ситуацию с приобретенным поголовьем молодняка свиней, а здоровых животных, как мы уже постарались объяснить, закупить не представляется возможным, коллектив СХЦ «Обчак» принял целый ряд мер по профилактике инфекционных заболеваний и созданию собственной кормовой базы.

Первым и обязательным условием после постановки приобретенных животных в карантинное помещение (в течение первых 1-2 часов) была обязательная обработка всех завезенных животных одним из (подтитрованных) антибиотиков. Антибиотики вводили курсом в лечебной дозе согласно инструкции по применению. Необходимо отметить, что целый ряд используемых нами антибиотиков оказались неэффективными при лечении, хотя основанием для их применения являлись результаты подтитровки в ГУ "Белорусский государственный ветеринарный центр". В данном случае опытным путем (были сформированы опытные и контрольные группы животных) мы определили ряд наименований препаратов, обладающих в нашем хозяйстве наиболее эффективным действием.

Одновременно с применением лечебных средств (на второй день после постановки животных на карантин) проводили профилактическую вакцинацию биологическими препаратами, содержащими антигены патогенных микроорганизмов, циркулирующих среди свиноголовья хозяйств - поставщиков.

Дальнейшие противозпизоотические обработки корректировали и выполняли в соответствии со схемами вакцинаций и обработок, применяемых в хозяйствах- поставщиках.

Учитывая биологические особенности свиньи как вида, изучив условия содержания их в помещениях СХЦ «Обчак» и проанализировав качество концентрированных кормов, получаемых по системе «Хлебопродукт» специалисты указанного хозяйства пришли к выводу, что корма необходимо готовить в своем хозяйстве. Основанием явилось то, что указанное хозяйство располагает высококачественными сырьевыми ресурсами собственного производства и в достаточном объеме. При условии приобретения набора необходимых кормовых добавок появилась реальная возможность готовить полноценные комбикорма для свиней. Самое основное - появилась уверенность в их качестве, что в свою очередь позволило направить внимание на отслеживание и ликвидацию других проблем.

Использование качественных концентрированных кормов, особенно при выращивании свиней, самое главное условие прибыли свиноводства. Правильный и рациональный подбор компонентов при разработке рационов для кормления свиней позволяет ликвидировать 90% проблем хозяйств-поставщиков. Сбалансированные и своевременно доведенные до животных корма, четко налаженная система поения в кратчайший срок повышают резистентность организма животных. Одновременно с этим рационально отработанная система ветеринарно-зоотехнических мероприятий позволила нам в первые дни после постановки животных на карантин снизить уровень нагрузки патогенных микроорганизмов и в дальнейшем, путем профилактических обработок, практически полностью освободить их организм от болезнетворных микробов.

Организм свиней крайне чувствителен к смене кормов. Даже незначительные изменения в составе рациона принуждают все системы организма перенастраиваться, вызывая микрострессы. Как раз в такие периоды и возможны возникновения инфекционных заболеваний.

Кроме того, резкое изменение рационов и состава кормов негативно влияет на сам процесс откорма. Организму всех без исключения животных необходим период адаптации, привыкания и перестройки. А это, в свою очередь, снижает прирост живой массы и экономические показатели производства свинины.

Именно с таким явлением постоянно сталкиваются все без исключения свиноводческие хозяйства Беларуси, у которых не налажен собственный выпуск высококачественных кормов. В таком положении до недавнего времени находился и СХЦ «Обчак».

При приобретении концентрированных кормов, в частности с ОАО «Пуховичский комбинат хлебопродуктов», постоянно получать комбикорм одной и той же марки было практически не реально. По непонятным причинам комбикорм рецепта № СК21 постоянно «менял» свой состав. Изменялись не только его составляющие, но и процентный состав компонентов. Только за период с 27.02.2012 по 12.03.2012 с указанного комбината хлебопродуктов, по аналогичным заявкам были получены три различных рецепта СК-21 (№СК-21/ПХЧ-11; №СК-21/ПХЧ-12; №СК-21/ПХЧ-13).

Заключение. Как сказано ранее, такие изменения в составе комбикормов, а соответственно и

рациона для свиней всегда приводят к стрессовым явлениям, отсюда снижение прироста живой массы и возникновение заболеваний. Убедившись в нерациональности дальнейшего использования кормов, которые производят КХП Республики Беларусь, специалисты СХЦ «Обчак» приступили к изготовлению полнорационных комбикормов на собственных площадях, используя для этого основные составляющие собственного производства.

Обязательному приобретению подлежали такие компоненты, как соевый и подсолнечный шрот, рапсовое масло, премиксы различных вариантов, фунгистат, полисахариды, доломитовая мука, сухое молоко, байпас, пуриветин, крупа рисовая и т.д. Указанные ингредиенты приобретались заранее. При этом учитывались условия их хранения и срок годности.

Такой способ приготовления кормов позволил обеспечить полноценными комбикормами все поголовье хозяйства в разрезе возрастных групп. Основным достоинством такого метода является то, что животные бесперебойно получают доброкачественные и полноценные корма, а специалисты имеют полную уверенность в их качестве.

Использование комбикормов собственного приготовления только за последний месяц позволило получить среднесуточный прирост живой массы поросят в возрасте 130-150 дней более 800 г.

Одновременно с этим снизилось количество заболеваний среди поголовья свиней, а следовательно, и затраты на их лечение.

Литература. 1. Лях Ю.Г. Пастереллез свиней в Беларуси - Минск, - 2002. - 201 с. 2. Атамась В.А., Андреев Е.В. { и др.} Респираторные болезни сельскохозяйственных животных / Киев: "Урожай", 1986, 184 с. 3. Лях Ю.Г., Высоцкий А.Э., Крот Л.А., Болабов В.П., Иванов С.А. Влияние длительного периода эксплуатации животноводческих помещений на микробиологическое состояние объекта // Ветеринарная медицина Беларуси. - №4. - 2004. - С. 10-11. 4. Душук Р.В. Респираторные болезни свиней. М. «Колос», 1982, 272 с. 5. Привалов Ф. И. Проблемы и пути повышения эффективности растениеводства в Беларуси / Материалы юбилейной междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию образования Института земледелия, г. Жодино, 29 июня 2007 г. / РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»; редкол.: Ф. И. Привалов [и др.]. – Минск: «ИВЦ Минфина», 2007. – 320 с. 6. Справочник агрохимика / В.В. Лапа [и др.]; под ред. В.В. Лапа. – Минск: «Белорусская наука», 2007.- 390 с. 7. Иващенко А.И. Повышение плодородия почвы, урожайности и качества товарной продукции / Белорусское сельское хозяйство, г. Минск, №5 (73), май, 2008. 8. Рекомендации по использованию в составе комбикормов для свиней полножировой инактивированной (термообработанной) сои - "Ассоя" / ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт свиноводства (ГНУ ВНИИС). . Подольск - 2002. 10 с.

Статья передана в печать 27.09.2012 г.

УДК 619:639.1. 091 (476)

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ БАКТЕРИОНОСИТЕЛЬСТВА СРЕДИ ОХОТНИЧЬИХ ЖИВОТНЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Лях Ю.Г.

Государственное научно-производственное объединение «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», г. Минск, Республика Беларусь

В статье приведены результаты исследований ситуации, сложившейся в Беларуси по инфекционным заболеваниям среди сельскохозяйственных животных агропромышленного комплекса. Показаны реальная картина численности популяций ресурсных видов животных в охотничьих хозяйствах и возможность возникновения инфекционной патологии среди них. Установлен видовой состав и определена частота встречаемости патогенных микроорганизмов среди охотничьих животных. Рассматриваются возможные пути их передачи в окружающую среду. Выявлены основные источники бактериального заражения ресурсных видов животных.

Results of studies of the situation prevailing in Belarus on infectious diseases of livestock agriculture are presented in this article. The real picture of the populations of resource species in the hunting areas and the possibility of infectious diseases among them are shown. Species composition and the frequency of occurrence of pathogens among the game animals are determined. Possible ways of transfer to the environment are considered. The main sources of bacterial contamination of resource species are clarified.

Введение. Согласно Государственной программе устойчивого развития села на 2011-2015 годы в Беларуси строятся и должны быть построены 2846 помещений для содержания крупного рогатого скота, 55 помещений по выращиванию и откорму крупного рогатого скота мясного направления, 72 современных комплекса по выращиванию свиней с законченным циклом производства, 38 репродукторов на действующих комплексах. А это, в свою очередь, подразумевает увеличение поголовья сельскохозяйственных животных.

Ситуация по инфекционной патологии среди сельскохозяйственных животных достаточно напряженная, исходя хотя бы из того, что практически все поголовье свиней общественного сектора в Беларуси, а это порядка 3 059 тыс. голов, содержится в помещениях, которые были построены от 5 до 30 и более лет назад. Среди крупного рогатого скота ситуация более стабильная, хотя бы потому, что в последние годы строительству помещений для содержания крупного рогатого скота уделялось достаточно много внимания.

Но одновременно с этим количество свиней и крупного рогатого скота в Беларуси ежегодно

увеличивается, так с 2011 года по 2012 год поголовье свиней возросло на 111,8 тыс. голов. Прирост по сравнению с 2011 годом составил 103,8%.

Численность крупного рогатого скота в Беларуси с 2011 по 2012 год возросла на 126600 голов и составила 4058000 голов.

Скопление сельскохозяйственных животных на фермах, нередко содержание их в неудовлетворительных зооигиенических условиях, вызывает возникновение инфекционной патологии (заболевание большого количества животных и их гибель). Оздоровление домашних животных (иммунизация, дегельминтизация) проводится еще недостаточно качественно, особенно при отгонном животноводстве, в местах наиболее частых контактов с дикими животными.

В Беларуси построено пять утилизационных заводов, которые должны проводить переработку боенских отходов и павших животных. Учитывая, что из указанных пяти утильзаводов, которые расположены в Могилевской области – Бельничский, Минской области – Логойский, Витебской области – Ушачский, Гродненской – Лидский и Брестской области – «Сария» функционируют только три, (Ушачский и Лидский в настоящий момент не работают) можно предположить, куда попадает вся масса павших животных и боенские отходы.

Для утилизации всей этой массы инфицированного материала, а трупы павших животных в основном и являются источником инфекции, работники сельскохозяйственных предприятий и граждане Беларуси (владельцы домашних и сельскохозяйственных животных) используют специально отведенные для этой цели площадки.

Как показала практика и наши исследования, захоронение павших животных ведется с грубейшими нарушениями. Располагаясь в своем большинстве в глубине лесных массивов, эти места зачастую становятся источниками заражения охотничьих животных.

К сожалению, инфекционные болезни диких животных в Республике Беларусь практически не изучены. Имеется незначительное количество публикаций по этому вопросу Х.С. Горегляда, (1971), В.Ф. Литвинова, Н.Ф. Карасева, В.А. Пенькевича, (2002), В.Ф. Литвинова, (2007). В данных монографиях авторы приводят лишь общие сведения о различных заболеваниях диких животных. Однако научные исследования по выделению возбудителей инфекций от диких животных, обитающих непосредственно в Республике Беларусь, изучению их патогенности, морфологических и биохимических свойств до настоящего времени не проводились [1, 2, 3].

Материалы и методы исследований. Задание «Разработать комплексные рекомендации по минимизации негативного влияния возбудителей инфекционных заболеваний в охотничьих хозяйствах республики на основе оценки масштабов их распространения» выполнялось согласно подпрограмме «Обеспечение возрастающего устойчивого использования ресурсов биосферы и сохранения благоприятной окружающей среды» Государственной научно-технической программы «Разработка и освоение инновационных технологий рационального использования природных ресурсов и повышения качества окружающей среды» (ГНТП «Природные ресурсы и окружающая среда»), 2011 – 2015 годы».

Лабораторные исследования по определению носительства возбудителей бактериальных заболеваний среди охотничьих животных в Беларуси проводили в ГВСУ «Минская областная ветеринарная лаборатория» и «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам». Статистические данные, использованные в статье, получены из Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Республики Беларусь, Министерства лесного хозяйства, Министерства статистики и анализа, а также охотничьих хозяйств Республики Беларусь.

В качестве материала, который был подвергнут лабораторному исследованию, использовали пробы внутренних органов (сердце, почки, селезенка, легкие, печень, лимфатические узлы, толстый и тонкий отделы кишечника с его содержимым, содержимое желудка) охотничьих животных добытых в период сезонных охот с 2009 по 2012 год. Отбор проб проводили непосредственно после добычи и разделки животного в стеклянную посуду или полиэтиленовые пакеты. При невозможности немедленно отправить материал на исследование его замораживали, после чего в замороженном виде доставляли в лабораторию.

Результаты исследований. Беларусь является страной, куда приезжают поохотиться туристы из России, Германии, стран Балтии, Испании, Италии, Франции, Польши. Охотхозяйства Министерства лесного хозяйства Республики Беларусь только за январь-октябрь 2011 года организовали 317 охотничьих туров для иностранных охотников, что принесло 2,8 млрд. белорусских рублей - вдвое больше, чем за аналогичный период предыдущего года, это примерно 40% от общего объема доходов.

Одним из основных моментов, которые привлекают туристов в Беларуси, это стабильно благополучная обстановка в плане эпизоотической ситуации по инфекционным и особо опасным заболеваниям. Всего в 2011 году от ведения охотничьего хозяйства планировалось получить Br 7,6 млрд, в том числе от охотничьих туров с участием иностранцев - около Br 2,6 млрд, от эксплуатации охотничьих домиков – Br 1,9 млрд. Расчеты показывают, что эти задания значительно перевыполнены - уже за десять месяцев 2011 года было получено Br 7,5 млрд. Доходы от эксплуатации охотничьих домиков за это время возросли вдвое и составили Br 2 млрд. В 2010 году охотхозяйствами, а их в Беларуси действует 255, было получено Br 4,5 млрд. доходов. Плановые показатели выполняют все областные лесохозяйственные объединения. При этом больше всего доходов от ведения охотничьего хозяйства получили лесхозы Витебского и Минского государственных производственных лесохозяйственных объединений.

Таблица 45

-Численность основных видов охотничьих животных в охотничьих угодьях в 2005-2011 гг., тыс. особей (по данным Министерства лесного хозяйства и Министерства статистики и анализа)

Вид животного	2005 г.	2006 г.	2007 г.	2008 г.	2009 г.	2010 г.	2011 г.
Лось	15,6	16,2	17,7	19,6	21,1	22,7	24,3
Олень	4,9	5,7	6,8	8,1	8,7	9,4	10,0
Кабан	38,6	43,2	47,9	56,0	63,9	69,1	74,0
Косуля	50,4	50,9	53,0	59,1	64,3	69,7	69,5
Белка	105,9	101,5	113,4	127,3	127,8	118,3	113,7
Заяц	206,5	198,7	181,3	179,0	170,7	161,2	169,4
Лисица	39,3	47,1	40,0	41,0	46,0	40,3	42,7
Ондатра	70,9	59,9	54,4	50,3	42,0	36,9	32,3
Норка	20,5	19,7	19,3	20,3	21,6	20,1	21,6
Бобр	48,0	52,5	58,8	59,6	62,3	63,3	60,5
Глухарь	9,1	9,3	9,2	8,9	8,6	8,9	9,3
Тетерев	47,0	45,7	41,6	41,2	37,9	37,4	37,9

Согласно данным Министерства лесного хозяйства и Министерства статистики и анализа, в 2011 г. в охотничьих хозяйствах Беларуси продолжает сохраняться динамика роста численности и добычи основных ресурсов видов охотничьих животных.

За 2011 год отмечен рост популяции лося. За этот период их число увеличилось на 7% и составило 24,3 тысячи особей.

Отмечается также прирост численности и других копытных животных. С 2005 по 2011 год численность оленя возросла с 4,9 тысяч особей до 10,0 тысяч. Только за последний год это увеличение составило 6%, или 0,6 тысяч особей.

Численность популяции косули за 2011 год по сравнению с 2010 годом снизилась на 0,2 тысячи или 0,2% и составила 69500 особей.

Численность кабана в 2011 году составила 74,0 тысяч особей. За 2011 год прирост численности кабана составил 7,0%, или 4,9 тысячи особей.

Добыча основных видов охотничьих животных в охотничьих хозяйствах Беларуси ведется в соответствии с разработанными на научной основе планами изъятия.

В 2011 году доля изъятия составила для лося 7,8% (в среднем за 2005-2011 годы – 6,1%), для оленя – 7,1% (6,2%), для кабана 38,5% (31,7%), для косули – 8,8 % (7,4%), что указывает на повышение доли изъятия в течение указанного периода (см. табл. 2).

В то же время расчетные показатели уровня добычи копытных животных в Беларуси составляют 3 тысячи особей лося, 1 тысяча – оленя, 24 тысячи – для кабана, 7,3 тысячи - для косули, т.е. оптимальные показатели ведения охотничьего хозяйства еще не достигнуты и для одного из видов копытных охотничьих животных.

Таким образом, снижение прироста нельзя объяснить одним только ростом добычи, а следует принять во внимание и другие факторы.

Анализируя отчетные данные, можно констатировать, что снижение численности зайцев, которое реально отмечалось с 2005 года, в 2011 году было приостановлено. По сравнению с 2010 годом в 2011 году это увеличение составило 8,2 тыс. особей.

В 2011 году снова наблюдалось увеличение численности лисицы. Этот прирост в 2011 году по сравнению с 2010 годом составил 2,4 тыс. особей. Одновременно снизилось и количество добытых лисиц. В 2011 году было добыто на 4392 лисицы меньше, чем в 2010 году.

Таблица 46

Динамика добычи основных видов охотничьих животных в 2005-2011 гг., особей (по данным Министерства лесного хозяйства и Министерства статистики и анализа).

Вид животного	2005 г.	2006 г.	2007 г.	2008 г.	2009 г.	2010 г.	2011 г.
Лось	659	744	990	1159	1318	1595	1886
Олень	186	412	329	441	613	706	714
Кабан	5826	7861	13371	18914	24105	25949	28500
Косуля	3105	2912	3562	4402	5073	5787	6125
Белка	2220	1859	2220	2555	2886	2315	2564
Заяц	53130	43432	55804	53710	50612	47463	41983
Лисица	22790	28040	31999	25838	25258	22550	18158
Ондатра	2903	2506	3409	2860	1932	2962	2762
Норка	1682	1765	2267	2309	2435	2531	2422
Бобр	243	413	2129	2220	3494	2324	14343
Глухарь	123	81	140	151	154	170	132
Тетерев	1179	314	247	332	364	317	205

Одним из сдерживающих факторов роста популяций охотничьих видов животных является возникновение инфекционных заболеваний. Дикие животные в условиях природы достаточно часто

становятся носителями бактериальных инфекций [4]. Способствует этому, как было приведено ранее, скопление большого поголовья сельскохозяйственных животных на фермах и комплексах, которые нередко содержатся в неудовлетворительных зооигиенических условиях, заболевают и гибнут. Места их захоронения в основном и являются главным очагом распространения инфекционных заболеваний бактериальной этиологии [5, 6].

В каждой конкретной местности заболевание - это не что иное, как результат комбинации географических "обстоятельств", которые сводят воедино возбудителя болезни, переносчика, промежуточного хозяина и восприимчивый организм (человека, животного) в наиболее благоприятный для этого момент [7, 8].

Очагами, где происходит инфицирование охотничьих видов животных, являются необорудованные скотомогильники, свалки с остатками продуктов переработки мясной продукции, навозохранилища, пастбища и т.д.

Для подтверждения предположений о носительстве возбудителей инфекционных заболеваний среди охотничьих видов животных на базе ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» и ГВСУ «Минская областная ветеринарная лаборатория» были проведены исследования патологического материала, взятого от дичи на территории Брестской, Витебской и Минской областей в 2009-2011 годах.

Исследования показали значительный уровень носительства различных возбудителей бактериальных заболеваний у кабанов – 72,1±6,8% (у 31 особи среди 43 обследованных). Встречаемость возбудителей инфекционных заболеваний бактериальной этиологии среди бобров и косуль достоверно ниже – 43,8±12,4% (у 7 из 16 обследованных) и 44,4±16,6% (у 4 из 9 обследованных) соответственно.

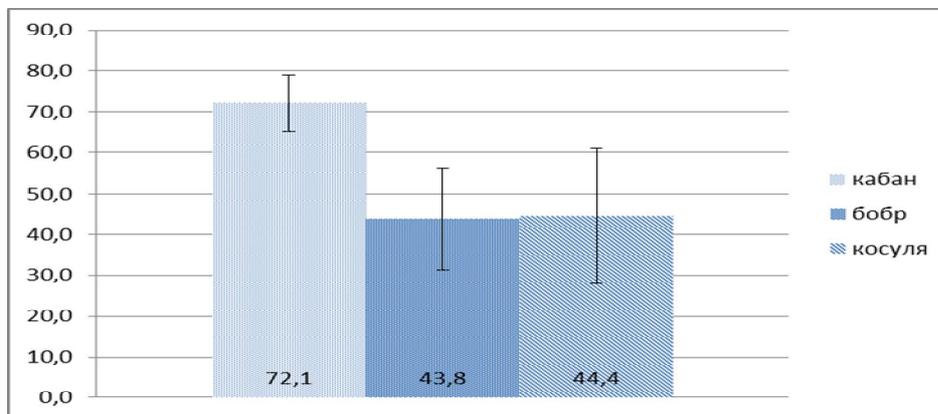


Рис. 36 Наличие возбудителей бактериальных инфекций среди кабанов, бобров и косуль

Расчет ошибки процента и его графическое изображение (рисунок 1) дает основание утверждать о достоверных различиях зараженности между кабаном и бобрами, кабаном и косулями. По нашим данным, носительство возбудителей бактериальных заболеваний у бобров и косуль находится почти на одинаковом уровне.

Данные бактериологических исследований патматериала, полученного при лицензионной добыче кабанов за весь период исследований, приведены нами на рисунке 2.

В результате лабораторных исследований материала от кабанов было выявлено носительство 7 видов возбудителей бактериальных инфекций. Наиболее часто встречались возбудители цитробактериоза (23,3%) и сальмонеллеза (23,3%). По 4,7% обследованных особей являлись носителями пастереллеза и стрептококкоза.

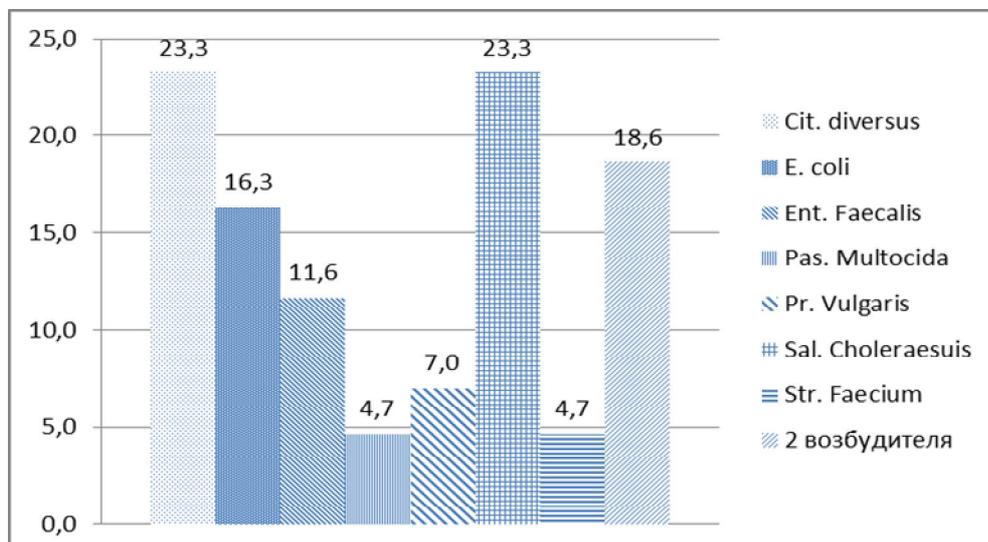


Рис. 37 Встречаемость возбудителей бактериальных заболеваний среди кабанов

В 16,3% установлено носительство возбудителей колибактериоза, энтерококкоза в 11,6%. У 7% добытых кабанов отмечено наличие бактерий патогенного протей. Следует отметить, что у 18,6% особей отмечалась ассоциация двух разных возбудителей.

Поле определения патогенных свойств, выделенные возбудители, в обязательном порядке, исследовались на чувствительность к антибиотикам.

Заключение. Проведенными исследованиями в рамках выполнения рабочей программы установлено:

1. Основными источниками заражения ресурсных видов животных следует считать домашних и сельскохозяйственных животных.

2. Наиболее вероятными путями заражения охотничьих животных является алиментарный путь (в результате поедания инфицированных трупов сельскохозяйственных животных, погибших от бактериальных инфекций, а также поедания мышевидных грызунов, являющихся носителями инфекций).

3. Проведенные бактериологические исследования позволили установить значительный уровень встречаемости различных возбудителей бактериальных заболеваний у кабанов – 72,1±6,8% (у 31 особи из 43 обследованных). Встречаемость возбудителей инфекционных заболеваний бактериальной этиологии среди бобров и косуль достоверно ниже – 43,8±12,4% (у 7 из 16 обследованных) и 44,4±16,6% (у 4 из 9 обследованных) соответственно.

Литература. 1. Романов В.С. Охотоведение / В.С. Романов, П.Г. Козло, В.И. Падайга. Мн., 2005. 447 с. 2. Литвинов В.Ф. Паразитоценозы диких животных / В.Ф. Литвинов. Минск, 2007. 581 с. 3. Лях Ю.Г. Инфекционная патология охотничьих животных и водоплавающих птиц в Беларуси и ее профилактика / Ю.Г. Лях, А.В. Морозов, С.А. Иванов, Д.Л. Белянко. Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы экологии - 2010». Гродно, 2010. - С. 119-121. 4. Лях Ю.Г., Морозов А.В. Значение микробных комплексов бактериальных инфекций в патологии охотничьих животных // Актуальные проблемы экологии: материалы VII междунар. науч.-практ. конф. (Гродно, 26-28 окт. 2011 г.) / Н.П. Канунникова (отв. ред.) [и др.]. – Гродно: ГрГМУ, 2011. – С. 89-91. 5. Лях Ю.Г. Пастереллез свиней в Беларуси - Минск, - 2002. - 201 с. 6. Кисленко В.Н. Ветеринарная микробиология и иммунология. Часть 2. Иммунология / В.Н. Кисленко, Н.М. Колычев / М.: КолосС, 2007. 224 с. 7. Морозов А.В., Лях Ю.Г., Нестерович С.Г. Особенности инфекционных заболеваний диких животных в природных экосистемах Беларуси // Сахаровские чтения 2012 года: экологические проблемы XXI века: материалы 12-й междунар. науч. конф., 17-18 мая 2012 г., г. Минск, Республика Беларусь / под ред. С.П. Кундаса, С.С. Позняка. – Минск: МГЭУ им. А.Д. Сахарова, 2012. – С. 207. 8. Павловский Е. Н., Природная очаговость трансмиссивных болезней в связи с ландшафтными эпидемиологией зооантропонозов, М. — Л., 1964.

Статья передана в печать 11.09.2012 г.

УДК 619:616.98.579:842

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ ВОЛОВ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПОЛИВАЛЕНТНОЙ АНТИТОКСИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ТЕЛЯТ, ПОРОСЯТ, ЯГНЯТ, ОВЕЦ И ПТИЦ

Медведев А.П., Ходр Мунзер, Грибанова М.В., Корочкин Р.Б.

УО «Витебская орден «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

В статье представлены результаты исследований по разработке способов прогностической оценки пригодности валов для производства сыворотки против сальмонеллеза животных.

The article features the data on developing methods for ievaluation of prospective vse of oxes for manufacturing serum against sallmonellosis

Введение. Сальмонеллез – инфекционная болезнь многих видов сельскохозяйственных и диких животных, вызываемая бактериями из рода *Salmonella*, семейства *Enterobacteriaceae*, характеризующаяся разнообразными клиническими проявлениями – от бессимптомного носительства до тяжелых септических форм.

В Республике Беларусь УП «Витебская биофабрика» поставляет животноводству страны вакцины для активной профилактики сальмонеллеза вакцины, а для пассивной профилактики и лечения животных - лечебно – профилактическую гипериммунную сыворотку, официальное название которой указано в названии статьи. Активность сыворотки является важнейшим показателем ее качества, определяющим профилактическую и лечебную эффективность препарата. Превентивная активность сыворотки зависит от многих факторов: чужеродности, антигенности, иммуногенности поливалентного антигена, доз и способов введения его в организм животных, кратности инъекций антигена и интервалов между ними, иммунной реактивности валов, которых закупают в хозяйствах республики с целью эксплуатации их в качестве будущих продуцентов сыворотки. Для сывороточного производства отбирают клинически здоровых животных в возрасте от 3-х до 5-ти лет, массой не менее 350 кг, т.е. отбор валов проводят без учета иммунной реактивности их организма к сальмонеллам, что не всегда гарантирует получение достаточно активной сыворотки от отдельных особей.

Поэтому целью нашей работы явилась разработка способов прогностической оценки пригодности валов для производства гарантированно активной сыворотки против сальмонеллеза животных.

Материалы и методы исследований. Для проведения опытов было отобрано с учетом общего состояния здоровья 20 валов, не подвергавшихся инъекциям поливалентным сальмонеллезным

антигеном. У всех животных брали кровь из яремной вены и путем отстоя получали сыворотку. Сыворотку крови каждого вола исследовали на наличие противосальмонеллезных антител в реакции агглютинации (РА), которую ставили классическим пробирочным методом. Сыворотку разводили физраствором 1:10, 1:20, 1:40 и т.д. до титра. В качестве антигена использовали культуры бактерий *S. choleraesuis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. abortusovis*, выращенные на мясо-пептонном скошенном агаре в пробирках. Сальмонелл с агара смывали стерильным физиологическим раствором. Смыв разводили до концентрации 500 млрд. м.к. в 1 см³ и добавляли его в каждое разведение сыворотки в соотношении 1:1. Реакцию ставили в объеме 1 см³. Пробирки выдерживали в термостате 14 – 16 часов и 2 – 3 часа при комнатной температуре. Результат реакции учитывали визуально и оценивали в плюсах по степени просветления жидкости и выраженности агглютината. Из 20 волов, взятых в опыт, у 8 титр антител составил 1:160 – 1:320, а у 12 – 1:20 – 1:80. После определения титра агглютининов всех животных гипериммунизировали по схеме, предусмотренной производственным регламентом по изготовлению препарата.

По окончании гипериммунизации исследовали агглютинирующую активность сыворотки методом, описанным выше, но разводили ее физраствором 1:25, 1:50, 1:100 и т.д. до титра.

Превентивную активность сыворотки крови определяли на белых мышах. Для этого мышам массой 18-20 г сыворотку вводили подкожно в дозах: 0,1; 0,02; 0,004; 0,0008; 0,00016 см³, используя на дозу не менее 5- мышей. Через 2 часа после введения сыворотки животных заражали 2 ЛД₅₀ сальмонелл соответствующего сероварианта. За мышами вели наблюдение в течение 10 суток, отмечая павших особей. Одновременно заражали мышей, не получивших сыворотку (контроль).

Иммуногенность сыворотки рассчитывали по формуле Кербера в модификации Ашмарина:

$$ИД_{50} = \lg D - \delta(\sum Li - 0,5), \text{ где}$$

D – максимальная из испытанных доз;

δ – логарифм числа разведения;

Li – отношение числа животных, давших эффект при введении данной дозы, к общему числу животных, которым эта доза введена;

$\sum Li$ – сумма значений Li , найденных для всех испытанных доз.

Выведение лейкоцитарной формулы осуществляли общепринятым в физиологии методом. Мазки из крови окрашивали по Романовскому-Гимзе и просматривали под световым микроскопом при объективе 40. При просмотре использовали цветную таблицу белой крови, и результаты подсчета лейкоцитов заносили в таблицу Егорова.

Зрелые формы Т- и В- лимфоцитов определяли по величине клеток, их структуре, окраске ядра и цитоплазмы. Т- лимфоциты достигают в диаметре 6,5 мкм, ядро у них круглое или слегка бобовидное, плотное, интенсивно окрашенное, занимает большую часть клетки. Цитоплазма имеет вид узкого базофильного ободка. В-лимфоциты крупнее Т-лимфоцитов, их диаметр 8,5 мкм, ядро у них рыхлое, менее интенсивно окрашенное. В световом микроскопе у этих клеток можно заметить перинуклеарное просветление цитоплазмы.

Результаты исследований. В результате определения агглютинирующей активности сыворотки крови всех 20-ти животных было установлено, что из 20-ти волов у 8 титр антител составил 1:160 - 1:320, с оценкой в два плюса, а у 12 – 1:20 – 1:80 с этой же оценкой. Все волы были подвергнуты гипериммунизации поливалентным формолантигеном по производственной схеме. По окончании гипериммунизации у волов взяли кровь, получили сыворотку и определили ее агглютинирующую и превентивную активность. Результаты определения агглютинирующей активности сыворотки представлены в таблице 1, а превентивной – в таблице 2. В таблицах приведены данные исследования общей пробы сыворотки крови волов, имевших до гипериммунизации титр агглютининов 1:160 – 1:320 (группа 1) и волов с титром антител 1:20 – 1:80 (группа 2).

Таблица 47

Сальмонеллы	Агглютинирующая активность сыворотки крови экспериментальных волов	
	Титр агглютининов в РА	
	Сыворотка от волов группы 1	Сыворотка от волов группы 2
<i>S. choleraesuis</i>	1:3200	1:1600
<i>S. dublin</i>	1:6400	1:1600
<i>S. typhimurium</i>	1:3200	1:1600
<i>S. abortusovis</i>	1:3200	1:1600

Из таблицы 47 видно, что титр антител сыворотки крови волов первой группы выше, чем титр сыворотки крови животных второй группы.

Таблица 48

Сыворотка от волов с титром антител до гипериммунизации	Превентивная активность сыворотки крови опытных волов			
	ИД ₅₀ сыворотки (см ³) для			
	голубей	белых мышей		
	<i>S. choleraesuis</i>	<i>S. dublin</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. abortusovis</i>
1:160 – 1:320	0,012 ± 0,001	0,012 ± 0,002	0,009 ± 0,001	0,010 ± 0,002
1:20 – 1:80	0,025 ± 0,001	0,024 ± 0,001	0,0025 ± 0,003	0,026 ± 0,002

Данные таблицы 48 свидетельствуют, что для голубей и мышей величина 50%-ной иммунизирующей дозы сыворотки (ИД₅₀), полученной от волов с титром антител до гипериммунизации

1:160 – 1:320, примерно в два раза меньше, чем ИД₅₀ сыворотки от волов, имеющих титр агглютининов до гипериммунизации 1:20 – 1:80.

Результаты экспериментальной работы свидетельствуют, что волы с титром противосальмонеллезных агглютининов 1:160 – 1:320, потенциально являются продуцентами более активной сыворотки, чем волы с титром антител в сыворотке крови 1:20 – 1:80.

Следовательно, отбор волов для производства лечебно – профилактической гипериммунной сыворотки нужно вести не только по общему физиологическому состоянию здоровья, но и по высоте титра антител в сыворотке крови к сальмонеллам.

Способ отбора волов по высоте титра антител в сыворотке их крови прост и приемлем для производства препарата на биопредприятиях. Этот способ позволит отбирать волов как будущих продуцентов гарантированно активной сыворотки.

При изучении морфологического состава крови волов было замечено увеличение количества эозинофилов в ответ на внутрибрюшинное введение антигена, что послужило поводом для выявления зависимости между уровнем эозинофилов и величиной активности сыворотки, получаемой от продуцентов. Поэтому мы взяли в опыт 10 волов, которым инъецировали внутрибрюшинно антиген в дозе 5 см³. Было установлено, что из 10 животных в крови 6 волов процентное содержание эозинофилов превышало физиологическую норму на 0,5%. Затем всех волов гипериммунизировали поливалентным сальмонеллезным антигеном. После гипериммунизации взяли кровь и получили сыворотку, которую изучили на предмет агглютинирующей и превентивной активности от волов с явно выраженной эозинофилией и от животных, в крови которых содержание эозинофилов не превышало физиологической нормы. Результаты этого изучения показаны в таблицах 49 и 50.

Таблица 49

Агглютинирующая активность сыворотки крови от опытных волов

Общая проба сыворотки от волов	Титр антител в РА к сальмонеллам			
	<i>S. choleraesuis</i>	<i>S. dublin</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. abortusovis</i>
с высоким содержанием эозинофилов в крови	1:3200	1:3200	1:6400	1:3200
с нормальным содержанием эозинофилов в крови	1:800	1:800	1:1600	1:800

Данные таблицы показывают, что титр антител сыворотки крови от волов с повышенным содержанием эозинофилов выше, чем сыворотки, полученной от животных с нормальным содержанием этих клеток в их крови.

Таблица 50

Превентивная активность сыворотки крови от опытных волов

Общая проба сыворотки крови от волов	ИД ₅₀ сыворотки (см ³) для			
	голубей		белых мышей	
	к сальмонеллам			
	<i>S. choleraesuis</i>	<i>S. dublin</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. abortusovis</i>
с высоким содержанием эозинофилов в крови	0,004±0,001	0,003±0,001	0,003±0,001	0,005±0,002
с нормальным содержанием эозинофилов в крови	0,024±0,002	0,028±0,003	0,025±0,002	0,029±0,003

Из данных таблицы 4 видно, что ИД₅₀ сыворотки для лабораторных животных от волов с высоким содержанием эозинофилов в крови значительно меньше, чем сыворотки от животных с нормальным содержанием этих форм лейкоцитов в крови.

На основании проведенной работы можно утверждать, что эозинофилия в крови волов на введение сальмонеллезного антигена является косвенным показателем уровня иммунореагирования организма животных на этот антиген.

Определение содержания в крови волов эозинофилов в ответ на внутрибрюшинное введение антигена может служить в качестве приемлемого для практики ориентировочного теста при отборе волов, будущих продуцентов высокоактивной сыворотки.

Большую роль в формировании иммунитета играют Т- и В- лимфоциты. Эти клетки ответственны за клеточный и гуморальный иммунитет организма животных и человека. Мы определяли содержание Т- и В- лимфоцитов в крови волов после каждой инъекции антигена в процессе гипериммунизации. Было замечено, что после первой инъекции антигена в дозе 5 см³ у 4-х волов из 10-и процентное содержание В- лимфоцитов было выше на 2-3% физиологической нормы, а у 6-ти животных содержание этих клеток

оставалось на предельно допустимом физиологическом уровне. Этот факт заинтересовал нас тем более, что В – лимфоциты ответственны за гуморальный иммунитет и, следовательно, концентрацию специфических антител в гипериммунной сыворотке.

По завершении цикла гипериммунизации мы исследовали агглютинирующую и превентивную активность сыворотки крови от 4 волов с повышенным содержанием В – лимфоцитов после первой инъекции антигена в дозе 5 см³ и от 6-ти животных с физиологически нормальным содержанием этих клеток в крови.

Результаты этой работы представлены в таблицах 51 и 52.

Таблица 51

Агглютинирующая активность сыворотки крови опытных волов

Сыворотка крови от волов	Титр агглютининов в РА к сальмонеллам			
	<i>S.choleraesuis</i>	<i>S.dublin</i>	<i>S.typhimurium</i>	<i>S.abortusovis</i>
с повышенным содержанием В - лимфоцитов	1:1600	1:3200	1:3200	1:3200
с нормальным содержанием В - лимфоцитов	1:800	1:1600	1:800	1:1600

Данные таблицы 5 свидетельствуют, что титр агглютининов в сыворотке крови волов с повышенным содержанием В – лимфоцитов выше, чем в сыворотке крови животных с нормальным содержанием этих клеток.

Таблица 52

Превентивная активность сыворотки крови экспериментальных животных

Общая проба сыворотки крови от волов	ИД ₅₀ сыворотки (см ³) для			
	голубей		белых мышей	
	к сальмонеллам			
	<i>S.choleraesuis</i>	<i>S.dublin</i>	<i>S.typhimurium</i>	<i>S.abortusovis</i>
с повышенным содержанием В - клеток	0,005±0,001	0,004±0,001	0,004±0,001	0,005±0,002
с нормальным содержанием В - клеток	0,016±0,002	0,008±0,001	0,016±0,001	0,012±0,002

Приведенные в таблице данные показывают, что ИД₅₀ для голубей и мышей ко всем сальмонеллам сыворотки крови волов с повышенным содержанием В – клеток ниже, чем сыворотки крови животных с нормальным содержанием В – лимфоцитов.

Заключение. Проведенная опытная работа позволяет заключить, что прогностическую оценку пригодности волов для производства сыворотки поливалентной антитоксической против сальмонеллеза телят, поросят, ягнят, овец и птиц можно проводить по высоте титра агглютининов в сыворотке крови животных до начала гипериммунизации, процентному содержанию эозинофилов и В – лимфоцитов после однократной внутрибрюшинной инъекции поливалентного инактивированного антигена в дозе 5 см³.

Литература. 1. Даровских, С.В. Поливалентная антитоксическая сыворотка против сальмонеллеза животных (получение, контроль и применение) : автореф. ... канд. вет. наук / С.В. Даровских ; Институт экспериментальной ветеринарии им. Вышелесского. – Минск, 2009. – 21 с. 2. Карпуть, И.М. Гематологический атлас сельскохозяйственных животных / И.М. Карпуть. – Минск : Ураджай, 1986. – 183 с. 3. Медведев, А.П. Производство и контроль гипериммунных сывороток и иммуноглобулина против сальмонеллеза животных : автореф. ... д-ра вет. наук / А.П. Медведев ; ВГНКИ. – Москва, 1998. – 31 с.

Статья передана в печать 17.09.2012 г.

УДК 577.18:579.252.55

МОНИТОРИНГ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СТАФИЛОКОККОВ К АНТИМИКРОБНЫМ ВЕЩЕСТВАМ

Музыка В. П., Стецко Т.И., Пашковская М.В., Падовский В.Н.

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

Стафилококки относятся к одним из основных этиологических факторов развития инфекционного процесса у домашних животных. Прежде всего, они остаются основным источником возникновения инфекций кожи и поверхностных тканей тела животных, а также раневой инфекции. Часто патогенные стафилококки входят в состав ассоциаций бактерий, которые вызывают системные заболевания, такие как пневмонии, энтериты, циститы, нефриты, метрит, маститы. Широкое присутствие стафилококков среди патогенных микроорганизмов в значительной степени обуславливает их высокий уровень резистентности к антибактериальным препаратам, о чем свидетельствуют приведенные в статье результаты

исследования антимикробной чувствительности микроорганизмов рода *Staphylococcus*, выделенных от больных животных. Полученные данные показали, что резистентность стафилококков к антибиотикам носит множественный характер.

Staphylococci are among the main etiological factors of infection in domestic animals. First of all, they remain the main cause of skin infections and superficial body tissues of animals, as well as wound infections. Pathogenic staphylococci are often included in the association of bacteria that cause systemic diseases such as pneumonia, enteritis, cystitis, nephritis, metritis, mastitis. Widespread presence of pathogenic staphylococci is largely responsible for their high level of resistance to antibiotics, as evidenced in the article results of the study antimicrobial susceptibility of microorganisms of genus *Staphylococcus*, isolated from infected animals, one from the eastern regions of Ukraine. The findings showed that the resistance of staphylococci to antibiotics is multiple in nature.

Введение. Неправильное и нерациональное применение антимикробных препаратов в ветеринарной медицине привело к быстрому формированию резистентных штаммов патогенных микроорганизмов к антибиотикам, что уменьшает их роль как лечебно-профилактического средства. При этом, чаще у микроорганизмов развивается множественная резистентность, то есть устойчивость к многим антибиотикам [1-3].

Для повышения эффективности антибиотиков необходимо внедрение ряда мероприятий, которые должны быть направлены как на предупреждение формирования резистентных штаммов микроорганизмов, так и на снижение уровня сопротивляемости уже сформированных, резистентных к антимикробным препаратам, бактериальных популяций [4]. Важным критерием правильного выбора антибиотика является исследование антимикробной чувствительности возбудителя. При соблюдении дозы, кратности введения и курса лечения больных животных обеспечивается максимальный терапевтический эффект [5]. Мониторинг чувствительности микроорганизмов, основных возбудителей инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных и птицы, дает четкую картину состояния антибиотикорезистентности микроорганизмов, что позволяет разработать определенные меры, направленные на повышение эффективности антибиотикотерапии в ветеринарной медицине.

В этиологии инфекционных заболеваний бактериальной природы важное место занимают микроорганизмы рода *Staphylococcus*. Часто стафилококки являются причиной инфекций кожи и поверхностных тканей тела животных (пиодермия, фурункулы, абсцессы, карбункулы и др.), инфекционных послеоперационных осложнений. Стафилококки до 80 % являются основной причиной раневой инфекции. Эти микроорганизмы часто являются этиологическим фактором возникновения системных заболеваний, таких как пневмония, гнойный плеврит, энтериты, энтероколиты, циститы, пиелонефриты, метриты, маститы. Так, в 38 % образцов молока и секрета вымени здоровых и больных коров был выделен *S. aureus*, причем из них 8,8 % - из молока здоровых животных, 59,3 % - из молока коров, больных субклиническим маститом, 28,8 % - из секрета вымени коров с клинической формой мастита и 18 % - от сборного молока [6].

В норме стафилококки заселяют кожу, а также слизистую ротовой и носовой полостей, глотки. Здесь они могут находиться постоянно до тех пор, пока не преодолеют кожный или слизистый барьер и не вызовут развитие болезни. Другой путь попадания стафилококков в организм животных - через волосяные фолликулы и протоки сальных желез. Обычно способность стафилококка к инвазии и резистентность животного-хозяина хорошо сбалансированы. В таком случае инфекция не развивается, пока не создается ситуация, когда "встречаются" высоковирулентные микроорганизмы и макроорганизмы с ослабленной резистентностью. Тогда, как правило, развивается локальный процесс (абсцесс или фурункул) без распространения инфекции. Но, когда стафилококк выходит за пределы локальной инфекции, он попадает в кровотоки и поражает различные органы и ткани организма.

Прежде всего, развитию стафилококковой инфекции способствует широкое, преимущественно безрассудное, применение антибиотиков. Характерной особенностью стафилококков является хорошая адаптация к действию антибиотиков, поэтому среди них часто появляются антибиотикорезистентные штаммы. Так, например, около 80 % штаммов *S. aureus*, выделенных из молока больных маститом коров, были резистентными к пенициллину, около 50 % - к эритромицину и неомицину, 40 % - к гентамицину и хлорамфениколу [7]. Из 100 штаммов *S. aureus*, выделенных из свинины, говядины, телятины, баранины, овечьего сыра и колбас, 39 % были резистентны к пенициллину, 35 % - к ампициллину, 27 % - к тетрациклину, по 12 % - к стрептомицину и эритромицину [8]. Поэтому для того, чтобы антибиотикотерапия сальмонеллёза была эффективной, необходимо владеть информацией о чувствительности возбудителя заболевания к антимикробным веществам.

Целью нашей работы было изучить чувствительность к антимикробным веществам штаммов сальмонелл, выделенных от больных домашних животных, по одному из восточных областей Украины.

Материалы и методы исследований. Материалом для исследования послужили гепаринизированная кровь (при сепсисе), взятая от больных животных, гнойный экссудат из ран, выделения из носовых отверстий, смывы с пораженной кожи и поверхностных тканей тела и половых органов животных, молоко от больных маститом коров и другое. Материал отбирали от лошадей, коров, телят, поросят, собак и кошек.

Материал высевали на чашки Петри с агаром, которые инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 18-24 часов. После инкубации фиксировали рост колоний микроорганизмов. Колонии подозрительные на стафилококки, высевали в пробирки на скошенный агар. Параллельно культуру сеяли на кровяной агар (с 5 % бараньей дефибринированной кровью) для определения гемолиза. При обнаружении колоний с характерным для стафилококков ростом культуры проверяли соответствие морфологии в мазках, окрашенных по Граму.

Тест на антимикробную чувствительность микроорганизмов проводили микробиологическим методом диффузии в агар с использованием стандартных дисков с антибиотиками. Стафилококки высевали на питательную среду Мюллер-Хинтон для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. Использовали диски с такими антибиотиками: бензилпенициллином, амоксициллином, ампициллином, цефазолином, цефтриаксоном, цефтазидимом, тетрациклином, стрептомицином, гентамицином, амикацином, кларитромицином, энрофлоксацином, ципрофлоксацином, офлоксацином, фуразолидоном, фузидином, левомицетином, флуорфениколом. Чашки с дисками инкубировали при температуре 37°C в течение 18-24 часов. После инкубации измеряли диаметры зон задержки роста культуры вокруг дисков. По величине зон ингибирования устанавливали уровень чувствительности сальмонелл к антибиотикам, и согласно "Методическим указаниям по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам методом диффузии в агар с помощью стандартных дисков с антибиотиками" [9] микроорганизм относили к одной из категорий: "чувствительный", "умеренно резистентный" и "резистентный".

Результаты исследований. На агаровой среде стафилококки давали рост в виде непрозрачных колоний. *S. aureus* рос в виде крупных колоний с золотистым оттенком. Для *S. epidermidis* был характерен рост колоний с эмалево-белым пигментом. На кровяном агаре образовывались зоны просветления (растворение эритроцитов) вокруг колоний. Особенно характерным гемолиз был для *S. aureus*.

В мазках, окрашенных по Граму, находили грамположительные кокки, расположенные неправильными гроздьями, которые не имели спор и капсул. В присутствии форменных элементов крови стафилококки располагались внеклеточно. Иногда встречались лейкоциты, которые фагоцитировали кокки, что свидетельствовало о более поздних стадиях заболевания.

Результаты изучения чувствительности стафилококков к антимикробным веществам приведены в таблице. В общем было исследовано 25 штаммов *S. aureus* и 21 штамм *S. epidermidis*.

Таблица 53

Чувствительность стафилококков к антимикробным веществам

Антимикробное вещество	Уровень чувствительности, %					
	<i>S. aureus</i> (25 штаммов)			<i>S. epidermidis</i> (21 штамм)		
	Чувствительный	Умеренно резистентный	Резистентный	Чувствительный	Умеренно резистентный	Резистентный
бензилпенициллин	8	4	94	9	38	53
амоксициллин	32	4	66	38	-	62
ампициллин	24	52	24	43	38	19
цефазолин	84	-	16	76	-	24
цефтриаксон	56	4	42	57	-	33
цефтазидим	28	8	64	38	-	62
тетрациклин	92	8	-	90	5	5
стрептомицин	8	-	92	10	5	85
гентамицин	92	8	-	90	-	10
амикацин	24	4	72	38	5	57
кларитромицин	24	-	76	14	-	86
энрофлоксацин	68	4	28	38	9	53
ципрофлоксацин	76	8	16	38	24	38
офлоксацин	84	-	16	81	19	-
фуразолидон	24	-	76	14	5	81
фузидин	32	-	68	57	-	43
левомицетин	56	-	44	57	-	43
флуорфеникол	40	-	60	38	5	57

Результаты, приведенные в таблице, свидетельствуют о множественном характере устойчивости стафилококков к антимикробным веществам. Полирезистентность для большинства штаммов стафилококков (как для *S. Aureus*, так и для *S. Epidermidis*) проявляется в устойчивости к действию бензилпенициллина, амоксициллина, стрептомицина, амикацина, кларитромицина, фуразолидона, флуорфеникола. В свою очередь, стафилококки сохраняют достаточно высокий уровень чувствительности к гентамицину, цефазолину, тетрациклину, антибиотикам фторхинолонового ряда (особенно к офлоксацину).

Заключение. Стафилококки являются одними из основных возбудителей инфекционных заболеваний у домашних животных. Изучение профиля антибиотикорезистентности стафилококков в одной из областей Украины показало разный уровень чувствительности микроорганизмов по отношению к

различным антимикробным препаратам, причем микроорганизмы проявляют устойчивость сразу к нескольким веществам. На основе полученных результатов можно оценить состояние антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов рода *Staphylococcus* в регионе, что поможет врачу ветеринарной медицины подобрать эффективный антибактериальный препарат для лечения стафилококкоза у домашних животных и позволит повысить эффективность антибиотикотерапии.

Перспективы дальнейших исследований. Проведение широкого мониторинга чувствительности микроорганизмов, основных возбудителей инфекционных заболеваний домашних животных и домашней птицы способствует правильному и рациональному использованию антибиотиков в ветеринарной медицине, что, в свою очередь, приведёт к снижению уровня антибиотикорезистентности.

Литература. 1. Altmeyer M.; Krabisch P.; Dorn P. Zum Vorkommen und zur Verbreitung von *Campylobacter jejuni/coli* in der Jungmastgeflügel-Produktion. Mitt 2. Untersuchung zur Charakterisierung, zum Resistenzverhalten und zur Pathogenität von *Campylobacter jejuni/coli* vom Geflügel // Dt. tierärztl. Wschr. – 1986. – Т. 93. – N 10. – S. 469-472. 2. Blackburn B.O.; Schlater L.K.; Swanson M.R. Antibiotic resistance of members of the genus *Salmonella* isolated from chickens, turkeys, cattle, and swine in the United States during October 1981 through September 1982 // Am. J. veter. Res. – 1984. – Т. 45. – N 6. – P. 1245-1249. 3. Franklin A. Antimicrobial drug resistance in porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* of O-group 149 and non-enterotoxigenic *Escherichia coli* // Veter. Microbiol. – 1984. – Т. 9. – N 5. – P. 467-475. 4. Sanders P. Resistance aux antibiotiques et traitements thérapeutiques // Bull. Soc. Veter. Prat. Fr. – 1998. – Vol.82. – № 6/7. – P. 327-346. 5. Стецько Т. І. Засади ефективної антибіотикотерапії у ветеринарній медицині. – Ветеринарна біотехнологія. – 2008. – № 13 (1). – С. 194–203. 6. Шурдуба Н.А., Сотникова В.М., Нагорных А.М. Определение энтеротоксичности, выделенного из молока и молочных продуктов // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. - 2009. - № 1. - С. 20-24. 7. Shah N.M.; Kher H.N. In vitro drug sensitivity of bacteria isolated from cases of mastitis in dairy cattle // Indian veter. J. - 1987. - Т. 64. N 11. - P. 908-910. 8. Federicova J.; Augustinsky V.; Grieger C. Antibiotikorezistencia kmenov *S.aureus* zo surovin a potravín živocísneho povodu // Veterinarstvi. - 1985. - Т. 35. N 7. - S. 318-319. 9. Визначення чутливості мікроорганізмів до антимікробних препаратів методом дифузії в агар за допомогою стандартних дисків з антибіотиками / Методичні вказівки. - Львів, 2010. - 14 с.

Статья передана в печать 03.09.2012 г.

УДК 619 : 636.09, : 616,98

СЕРОГРУППОВОЙ ПЕЙЗАЖ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ И ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ИНФЕКЦИИ ПРИ ЛЕПТОСПИРОЗАХ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ПРИЧЕРНОМОРЬЕ

Наконечный И.В.

Николаевский национальный университет им. В.А. Сухомлинского, Украина

Современное существование возбудителей лептоспирозов на территории Северного Причерноморья обеспечено одновременно сапронозными, сапрозоонозными и зоонозными резервуарами и источниками. Основное эпидемическое значение прочно удерживают природные и синантропические источники лептоспир, тогда как достоверные факты инфицирования человека в зоне антропоургических (фермских) очагов отсутствуют. Домашние животные и человек в одинаковой мере подвержены угрозе заражения лептоспирами из двух основных источников – сапрозоонозных (в природе) и синантропических (на территории ферм).

The Abstract. The modern existence of leptospirosis in the territory of the northern Black Sea region granted concurrently sapronosis, saprozoonosis and zoonosis reservoirs and sources. The main importance of firmly holding onto an epidemic and natural sinantropis sources leptospirs, while valid evidence of human infection in the zone of antropurgičeskikh (fermskih) there are no hot spots. Pets and people alike face the threat of contaminating leptospirami with two main sources-saprozoonoznyh (in nature) and sinantropičeskikh (inside).

Введение. Лептоспирозы человека и животных на юге Украины сохраняют значение наиболее опасных природно-очаговых зоонозных нозоформ [6], одинаково актуальных в эпизоотическом и эпидемическом отношении. При этом заметное совпадение волн активности инфекции в природе, синантропических и антропоургических очагах, а также близкая им амплитуда эпидинтенсивности лептоспироза, прямо указывает на общность процесса. В то же время подобная взаимозависимость и признаки двухкомпонентности (наличие эпизоотического и эпидемического этапов) процесса более характерны для явных зоонозов (бруцеллез) [7] и в целом парадоксальны в отношении типично сапронозной нозоформы, которой является лептоспироз [4].

Кроме того, ландшафтно-климатические условия Северного Причерноморья, расположенного в зоне аридно-степной зоны, далеки от оптимальных для интенсивной циркуляции гидрофильных патогенов, которыми являются лептоспиры [1]. В таких условиях стойкая напряженность эпизоотической ситуации по лептоспирозу в животноводстве и акцентированный рост эпидинтенсивности, остаются непонятными.

Целью данной работы является определение факта взаимосвязи между эпизоотическими процессами лептоспироза в очагах разных экотипов и напряженностью эпидемической ситуации.

Оценка указанных параметров при этом базируется на серопейзаже возбудителей, совпадение основных серогрупп лептоспир в экологически разных объектах паразитирования (включая и человека) позволяет предполагать единую цепь их циркуляции. Соответственно если эпидпроцесс лептоспироза в регионе проявляет двухкомпонентность (животные→человек), тогда и методы борьбы с ним будут отвечать таковым при типичных зоонозах. Отсутствие же двухкомпонентности указывает на явно сапронозный характер эпидпроцесса со всей соответствующей данной группе инфекций спецификой мер борьбы.

Материал и методы. В территориальном плане под регионом Северное Причерноморье понимают общую площадь Одесской, Николаевской и Херсонской областей. Учитывая наиболее выраженную

однородность ландшафтно-климатических условий территории Николаевской области, почти полностью расположенной в зоне Причерноморских степей, все материалы и аналитические исследования данной работы были ограничены площадями, ее административными границами.

Основными материалами для данной работы служили результаты собственных долговременных исследований (1994-2010 гг.) по проблеме лептоспироза, выполненных в рамках темы «Экологические закономерности существования очагов природных бактериальных зоонозов на юге Украины» – государственная регистрация № 0108U002831. Кроме того, в качестве дополнительных материалов были использованы отчетные и литературные ретроспективные данные (с 1961 г.). Обобщенным анализом имеющихся материалов установлена динамика показателей эпизоотической и эпидемической интенсивности лептоспироза, серогрупповое распределение возбудителей, видовая специфика носителей и резервуаров инфекции, долговременная и сезонная активность очагов разных типов, а также оценены сравнительные титры антител у животных на разных фазах инфекционного процесса.

В методическом плане исследования носили комплексный характер, что обусловило необходимость использования разнообразных общепроцессуальных и специальных научных методов. При лабораторных исследованиях выполнено более 7 тысяч первичных экспертиз, в том числе 1308 патологоанатомических, 1300 бактериологических, 79 биологических и 4313 серологических, с охватом 18 видов экзотропных и синантропных млекопитающих, а также 4557 голов домашних животных.

Спецификой работы предусмотрен поиск и раскрытие межкомпонентных взаимосвязей в природных биоценологических формированиях, что вызвало необходимость применения специальных зоологических, популяционных и эпизоотологических методов исследований. Последние, в свою очередь, объединены с разнообразными методиками полевых и лабораторных исследований, отображенных в специальных инструкциях, наставлениях и рекомендациях [3]. Серологический контроль на лептоспироз проводили в РМА с тест-штаммами 12 серогрупп, согласно ГОСТ 25386-91. «Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики лептоспироза». /Взамен ГОСТ 25386-82; Введ. 01.01.93.).

Результаты исследований и их обсуждение. Учитывая природно-очаговую сущность лептоспироза, **первым этапом данной работы** было определение видовых и этиологических закономерностей существования данной инфекционной нозоформы в природной среде. С этой целью подвергнуты анализу результаты долговременных (1994-2007) серологических исследований 935 проб сыворотки крови от 18 видов диких (экзантропных) животных как возможных носителей лептоспир в природе (табл.54).

Таблица 54

Результаты серологических исследований на лептоспироз диких животных, выполненных за период 1994-2007 гг.

Вид животных	Исследовано, особей	% у видовой структуре	Установлено серопозитивных		Серогрупповая направленность антител										
			Особей	%	Grippotyphosa	Pomona	Icterohaemorrhagiae	Tarassovi	Canicola	Hebdomadis	Sejroe	Bataviae	Australis	Смешанные	
Дикий кабан	22	2,3	9	40,9	1	1	4	-	-	-	-	-	-	1	2
Косуля европейская	29	3,1	5	17,2	2	-	1	-	-	-	-	-	2	-	-
Заяц европейский	78	8,3	8	10,2	3	-	2	-	-	1	-	-	-	-	2
Лисица обычная	36	3,8	30	83,3	2	2	1	-	5	3	3	2	1	11	
Ондатра	31	3,3	17	54,8	3	-	9	-	-	1	-	-	-	5	
Крыса серая	39	4,2	9	23,1	1	-	6	-	-	1	-	-	-	1	
Полевка обычная	272	29,1	57	20,9	33	-	7	-	-	-	2	-	-	15	
Полевка лесная	7	0,7	1	14,3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Полевка общественная	5	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Полевая мышь	12	1,3	7	58,3	1	3	1	-	-	1	-	-	-	1	
Мышь желтогорлая	2	0,2	1	50,0	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	
Мышь домовая	214	22,9	43	37,7	-	-	-	-	-	15	5	21	-	3	
Мышь курганчиковая	128	13,7	11	8,6	2	-	-	-	-	-	8	1	-	-	
Мышь лесная	37	3,9	5	13,5	3	-	1	-	-	-	-	-	-	1	
Мышь-малютка	3	0,3	1	33,3	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	
Крыса водяная	12	1,3	9	75,0	-	-	6	-	-	-	1	-	-	2	
Бурозубка малая	5	0,5	2	40,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	

Бурозубка обычная	3	0,3	1	33,3	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Всего, особей	935	100	216	23,1	52	7	38	-	5	22	20	27	3	44
% отношения антител по серогруппам лептоспир					24,1	3,2	17,5	-	2,3	10,2	9,2	12,5	1,4	20,4

Установлено, что в 32,1% случаев выявлены антитела к лептоспирам 8 серогрупп, что указывает на факт значительного распространения лептоспир в природной среде региона. Наиболее высокий уровень серопозитивности обнаружен у лисицы (83,3%), водяной крысы (75,0%), ондатры (54,8%), дикого кабана (40,9%) и малой бурозубки (33,3%). Высокий процент серопозитивности желтогорлой мыши и мышималютки сомнителен при малой выборке (всего 2-4 особи вида).

В числе лидирующих серогрупп находятся лептоспиры *Grippotyphosa* (24,1%) и *Icterohaemorrhagiae* (17,5%). Антитела к указанным серогруппам проявляют явно выраженную видоспецифичную «привязку» к определенным видам носителей. Так, серая полевка и домовая мышь имели антитела к *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Bataviae*, *Hebdomadis*, тогда как у ондатры, водяной и серой крысы четко преобладают антитела только к *Icterohaemorrhagiae*. Среди указанных носителей также имеются заметные различия в направленности антител, у домовых мышей (*Mus musculus*) преобладают к лептоспирам *Bataviae*, *Hebdomadis*, *Sejroe*, у серой полевки – к *Grippotyphosa*, последние нередко одновременно с антителами к *Icterohaemorrhagiae* (в одинаковых титрах).

Указанная структура серопейзажа свидетельствует, что в природе индивидуальное паразитирование и спонтанная циркуляция лептоспир сохраняет выраженную зависимость «серогруппа – вид млекопитающих». Это позволяет выделить экологически связанные сообщества, объединённые по типу «паразит-хозяин»: *Grippotyphosa* – серая полевка; *Icterohaemorrhagiae* – серая крыса, ондатра, водяная крыса; *Sejroe*, *Bataviae* – мышь домовая; *Hebdomadis* – курганчиковая мышь; *Canicola* – лисица.

Антитела к лептоспирам группы *Pomona* обнаружены в нескольких случаях и только у отдельных особей полевых и желтогорлых мышей, достаточно редкостных в Северном Причерноморье. Очень важно, что в природных условиях спонтанной циркуляции лептоспир *Tarassovi*, фоновых в животноводстве [5], не обнаружено. Это указывает на прочную экологическую «привязку» лептоспир *Tarassovi* лишь к домашним животным.

Значительная часть (20,4%) серопозитивных диких животных разных видов имели поливалентные (смешанные) антитела к лептоспирам *Grippotyphosa*, *Hebdomadis*, *Sejroe*, *Bataviae*, *Icterohaemorrhagiae*. Поливалентность антител может быть следствием одновременного контакта животных с лептоспирами нескольких серогрупп (при обширности источников), так и результатом транзитных форм инфекции, индуцированных межвидовой миграцией инфекта. Например, наличие смешанных антител у дикого кабана и лисицы к *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Bataviae*, наиболее вероятно обусловлено движением возбудителей по трофическим вертикалям, тогда как антитела к лептоспирам *Canicola* явно видоспецифичны (типичны для представителей семейства псовых) и закономерно отсутствуют у грызунов и копытных [5].

Энзоотический процесс большинства природно-очаговых инфекций в агроландшафте обычно не ограничен границами спонтанных очагов и имеет свое продолжение среди синантропных животных, которые приспособились к существованию возле человека [1]. Это в первую очередь серая крыса и домовая мышь. Поэтому **вторым этапом работы** предусмотрены аналитические обобщения результатов контроля антропогенных очагов синантропического типа (табл.55).

Таблица 55

Результаты исследований на лептоспироз синантропных грызунов

Вид животных	Количество исследованных особей	В т.ч. серопозитивных в титре 1:50 на +++ и выше		Серогруппы лептоспир										
		Особей	%	<i>Grippotyphosa</i>	<i>Pomona</i>	<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Canicola</i>	<i>Tarassovi</i>	<i>Hebdomadis</i>	<i>Sejroe</i>	<i>Bataviae</i>	<i>Australis</i>	Смешанные	
Серая крыса	211	49	23,2	0	2	34	0	2	0	0	0	0	0	11
Мышь домовая	724	169	23,3	30	5	4	0	3	44	20	27	0	36	
Всего, особей	935	216	23,1	30	7	38	0	5	44	20	27	0	47	
Соотношение по серогруппам, %				13,8	3,2	17,5	0	2,3	10,2	9,2	12,5	0	21,8	

Данные проведенного анализа данных свидетельствует, что при серологическом контроле синантропных мышей и крыс, отловленных в населенных пунктах, в 23,1% случаев фиксированы антитела к лептоспирам. Их направленность выражена к представителям серогрупп *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Bataviae*, *Hebdomadis*, *Sejroe*. При этом антитела к *Icterohaemorrhagiae* абсолютно преобладали у серой крысы, тогда как у домашней мыши - *Hebdomadis* и *Bataviae*. Отдельные особи мышей имели антитела одновременно к лептоспирам *Grippotyphosa*, *Sejroe*, *Bataviae*, *Australis*.

Аналогичные результаты в отношении серогрупповой структуры противолептоспирозных антител у синантропных грызунов получены и при анализе отчетных данных Николаевской горСЭС (за 1984-2006 гг). Общая серопозитивность грызунов, отловленных на территории города Николаева и его окрестностей, составила 4,7% у мышей и 9,8% у крыс. Многолетний профиль этих показателей отличает большая амплитуда – от 0 до 10,8%. Самые высокие показатели серопозитивности фиксированы в 1997 и 2004 годах, что совпадает с годами пиковой численности грызунов в природе.

Таким образом, анализ серопейзажа лептоспир у синантропных грызунов указывает на сохранение видоспецифичности инфекционных паразитов, циркулирующих в синантропических очагах. Так, в природной среде и в населенных пунктах серая крыса является носителем лептоспир *Icterohaemorrhagiae*, а домовые мыши (экзантропных и синантропных популяций) остаются главными носителями лептоспир *Hebdomadis*, *Bataviae* и *Sejroe*. Подобная ситуация прямо указывает на этиологическое единство кругов циркуляции инфекта в природных и синантропических очагах лептоспироза, обусловленное стойкой видоспецифичностью инфекционных паразитов даже в условиях их постоянной межвидовой и межстициальной миграции. Естественно, что в эпидемическом плане синантропические очаги имеют намного больший потенциал, связанный с высокой частотой прямых и опосредованных контактов человека с синантропными носителями лептоспир.

Третий этап работы предусматривал анализ эпизоотической ситуации по лептоспирозу в животноводстве. С целью детализации ситуации по лептоспирозу в животноводстве был выполнен первичный анализ собственных материалов, полученных в 1994-1999 годах при лабораторном контроле свиней, крупного рогатого скота и лошадей, содержащихся в хозяйствах Николаевской области (табл.56)

Таблица 56

Показатели серопозитивности и серогрупповая структура противолептоспирозных антител у домашних животных

Вид животных	Исследовано, голов	Установлено серопозитивных, голов	% серопозитивных	Направленность антител к серогрупповым антигенам лептоспир								
				<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Hebdomadis (kabura)</i>	<i>Sejroe (Polonica)</i>	<i>Canicola</i>	<i>Pomona</i>	<i>Tarassovi</i>	<i>Grippotyphosa</i>	<i>Polonica + kabura</i>	«Смешанные» антитела, проб
КРС	2986	1033	34,6	51	279	46	-	3	211	56	201	186
% по серогруппам лептоспир				4,9	27,0	4,4	-	0,3	20,4	5,4	19,5	18,0
Свиньи	922	488	52,9	79	2	9	6	217	97	7	6	162
% по серогруппам лептоспир				16,2	0,4	1,8	1,2	44,5	19,9	1,4	1,2	33,2
Лошади	210	95	45,2	37	1	-	2	1	11	21	1	21
% по серогруппам лептоспир				38,9	1,1	-	2,1	1,1	11,6	22,1	1,1	22,1
Всего	4118	1616	39,2	167	282	55	8	221	319	84	208	369
% по серогруппам лептоспир				10,3	17,4	3,4	0,5	13,6	19,7	5,2	12,9	24,5

Результаты анализа данных (табл.3) свидетельствуют о достаточно высоких уровнях инфицирования животных лептоспирами, так среди исследованных особей КРС обнаружено 34,6%, среди свиней – 52,9, среди лошадей – 42,5% серопозитивных. При этом у них выявлены антитела к лептоспирам 7 серогрупп, в числе которых лидерство удерживали *Tarassovi* – 19,7%, *Hebdomadis (kabura)* – 17,4%, *Pomona* – 13,6%, *Icterohaemorrhagiae* – 10,3% и *Grippotyphosa* – 5,2%. Часть серопозитивных животных (24,5%) имели поливалентные антитела одновременно к лептоспирам 2-3-4 серогрупп, что свидетельствует о контактах с разными источниками инфекта.

У серопозитивных особей крупного рогатого скота в основном идентифицированы моновалентные антитела к *Hebdomadis* (9,1%) и *Tarassovi* (8,3%), на серогруппу *Sejroe* приходится лишь 4,3%, на

Icterohaemorrhagiae – 4,7%. Почти 20% серопозитивных животных имели поливалентные антитела, к лептоспирам серогрупп *Icterohaemorrhagiae*, *Tarassovi*, *Hebdomadis*, *Grippotyphosa*.

Среди свиней, позитивно реагирующих в РМА, стабильно преобладали животные с антителами к лептоспирам серогрупп *Pomona* (47%), *Tarassovi* (19,9%) и *Icterohaemorrhagiae* (16,1%). Поливалентные антитела зафиксированы в 33,2% от общего числа серопозитивных.

У лошадей противолептоспирозные антитела направлены преимущественно к серогруппам *Tarassovi*, *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, проявляя аналогично с таковыми у крупного рогатого скота, что указывает на значение пастбищного заражения.

На четвертом этапе работы выполнены аналитические обобщения в отношении оценки эпидемической ситуации по лептоспирозу. Установлено, что в 1961-2006 г. среднегодовой показатель абсолютной заболеваемости на территории Николаевской области составлял 34 случая в год, а показатель эпидинтенсивности - 3,8 (на 100 тыс. населения), стабильно превышая среднеукраинские показатели [6]. Минимальное значение показателя эпидинтенсивности (0,3) было отмечено в 1961 году, максимум (5,3) - в 1999 году, с 2000 года заметно выражена тенденция к стабилизации.

Постоянный прирост заболеваемости обеспечивают в основном северо-западные районы области и город Николаев. Заболеваемость в южных (аридных) районах минимальна, случаи диагностирования лептоспироза там единичны (5-12 за 40 лет). Центральные районы отличают средние уровни эпидинтенсивности (1,2-3,6/100 тыс. населения), кроме территории Вознесенского и Новоодесского административных районов, где этот показатель удерживается на уровне 5,3-7,3. Анализ показателей интенсивности болезни по районам демонстрирует их снижение с севера на юг (с 10,3 до 0,5 случаев на 100 тыс. населения), что указывает на прямую зависимость напряженности эпидситуации от уровня увлажнения среды. Обобщенные данные о заболеваемости населения области и серогрупповой структура обнаруженных антител отображены в таблице 4.

Согласно ретроспективным данным, основными возбудителями манифестных форм лептоспирозов людей на территории Николаевской области выступают представители серогруппы *Icterohaemorrhagiae*, антитела к которым фиксированы в 74,7% от числа всех лабораторно подтвержденных случаев болезни.

На втором месте – лептоспиры серогруппы *Grippotyphosa* (9,5%). Указанная специфика четко указывает на основные эпидемические источники лептоспир *Icterohaemorrhagiae* - серую крысу (и соответственно основное значение синантропических очагов), тогда как в отношении лептоспир *Grippotyphosa* явно выражена связь с полевыми природными очагами, поддерживаемыми обычной (серой) полевкой. Фиксированы также отдельные случаи инфекции, инициированные лептоспирами *Tarassovi* (2), *Pomona* (2), *Canicola* (7), *Hebdomadis* (5). Имели место, особенно в 90-е годы, случаи обнаружения «смешанных» антител с преобладанием титров к *Icterohaemorrhagiae* в комплексе с *Pomona*, *Canicola*, *Grippotyphosa*. В 1997 году был зафиксирован 21 подобный случай, в 1998 – 5, в 1999 – 19, в 2001 – 7.

Таблица 57

Показатели заболеваемости и этиологическая структура лептоспирозов в Николаевской области (по данным облСЭС)

Годы	Случаев болезни	В т.ч. лабораторно подтвержденных	Серогрупповая направленность антител												
			<i>Icterohaemorrhagiae</i>	<i>Grippotyphosa</i>	<i>Pomona</i>	<i>Tarassovi</i>	<i>Canicola</i>	<i>Hebdomadis</i>	<i>Javanica</i>	<i>Sejroe</i>	<i>Cinopteri</i>	<i>Batavia</i>	<i>Australis</i>	Смешанные	Всего серогрупп/год
1979	7	7	3	-	-	1	1	-	-	-	2	-	-	-	4
1980	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1981	10	8	6	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2
1982	8	6	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
1983	14	14	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
1984	9	8	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	3
1985	18	13	10	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	4
1986	9	5	2	1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	3
1987	2	2	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	2
1988	8	5	3	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	3
1989	43	38	30	6	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	4
1990	17	15	13	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	2
1991	36	34	29	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4
1992	33	28	26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
1993	18	13	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
1994	21	19	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	4
1995	49	43	43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

1996	45	37	37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
1997	148	114	50	42	1	-	-	-	-	-	-	-	-	21	4
1998	56	44	34	2	-	-	3	-	-	-	-	-	-	5	5
1999	71	62	38	2	-	-	3	-	-	-	-	-	-	19	6
2000	45	37	31	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3
2001	61	57	47	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	6	7
2002	41	39	35	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	1	4
2003	18	18	13	2	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-
2004	28	23	12	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3
2005	17	15	11	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	1	5
2006	9	9	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Всего	842	706	532	73	2	2	10	8	0	0	6	0	0	70	7
Соотношение по серогруппам, %			75,3	10,3	0,28	0,28	1,4	1,1	0	0	0,8	0	0	9,9	

Обще эпидемическая характеристика региональной ситуации по лептоспирозу отличается преобладанием спорадического проявления болезни, отдельные мелкие вспышки с охватом 3-5 человек были отмечены в 1995, 1996, 1999 годах. Единственная мощная вспышка с охватом почти 150 человек имела место в сельской местности летом 1997 года на территории Доманевского р-на [2]. Важной региональной особенностью также является преобладание эпидемической регистрации болезни именно на территории стационарно активных природных очагов, расположенных в северо-западных районах области (Врадиевский, Доманевский, Первомайский, Кривоозерский). Практически все случаи инфицирования людей там имели место летом и ранней осенью, зимой фиксировано всего несколько случаев (Вознесенский р-н и окрестности города Николаева), которые явно связаны с синантропичными источниками. Большинство заболевших – это жители городской местности и райцентров, которые работали или отдыхали на природе. Возрастную структуру заболевших отличает преобладание взрослого населения (28-45 лет), среди которых 69% составляют женщины. Выраженная профессиональная зависимость в проявлении инфекции отсутствует. Сезонность летняя, пик регистрации последняя декада июля – первая декада августа, что совпадает с разгаром купального сезона.

Заключение.

1. Функционирующие на территории Северного Причерноморья природные очаги лептоспироза имеют четко выраженную ландшафтно-экологическую «привязку» к речным долинам, естественным и искусственным водоёмам, зонам искусственного орошения. В природе выявлена циркуляция лептоспир 8 серогрупп, среди которых лидерство удерживают представители серогрупп *Grippotyphosa* (24,1%) и *Icterohaemorrhagiae* (17,5%) при сохранении их гостальной обособленности. По данному признаку установлены экологически взаимосвязанные сообщества: *Grippotyphosa* – обычная полевка; *Icterohaemorrhagiae* – серая крыса, ондатра, водяная крыса; *Sejroe*, *Bataviae* – домовая мышь (преимущественно синантропные экоформы); *Hebdomadis* – курганчиковая мышь; *Canicola* – лисица.

2. В большинстве населенных пунктов сформированы и активно функционируют пульсирующие очаги лептоспироза синантропического типа, поддерживаемые серой крысой и домовою мышью – носителями лептоспир *Icterohaemorrhagiae*, *Hebdomadis* и *Bataviae*.

3. В регионе повсеместно распространены антропоургические очаги лептоспироза фермского типа, поддерживаемые домашними видами животных. Их отличия от природных связаны с: 1) отсутствием ландшафтно-стациональной зависимости; 2) циркуляцией штаммов, экологически обособленных от природных; 3) двукомпонентным характером эпизоотического процесса; 4) преобладанием контактных и половых путей передачи инфекта; 5) значительной частотой инфицированности животных (в стадах КРС до 36%, у свиней – до 45%).

4. Стремительное возрастание объёмов регистрации серопозитивных к лептоспирам *Icterohaemorrhagiae* домашних животных обусловлено активизацией синантропных источников, связанных с серой крысой. При этом факты формирования в животноводстве региона энзоотичных очагов лептоспироза *Icterohaemorrhagiae* не установлены.

5. Существование возбудителей лептоспирозов в настоящее время обеспечено одновременно сапронозными, сапрозоонозными и зоонозными резервуарами и источниками. В отличие от природных и синантропических источников, достоверное влияние антропоургических (фермских) очагов лептоспироза на эпидемическую ситуацию в регионе не выражено. Домашние животные и человек в одинаковой мере подвержены угрозе заражения лептоспирами с двух основных источников – сапрозоонозных (в природе) и синантропических (на территории ферм).

Литература. 1. Ананьина Ю. В. Природно-очаговые бактериальные зоонозы: современные тенденции эпидемиологического проявления / Ю. В. Ананьина // ЖМЭИ. – 2002. – № 6. – С. 86–90. 2. Баздирева Н. Г. Спалах лептоспирозу в Миколаївській області / Баздирева Н. Г. [та ін.]. // Санітарна охорона території України та профілактика особливо небезпечних інфекцій. – Одеса: Одеський противочумний інститут, 1997. – С. 16–17. 3. Карасева Е. В. Методы изучения грызунов в полевых условиях / Карасева Е. В., Телицына А. Ю. – М.: Наука, 1996. – 227 с. 4. Литвин В. Ю. Экологическая специфика природной очаговости сапронозов / Литвин В. Ю. // Вопросы природной очаговости инфекций. – 1986. – № 14. – С. 114–124. 5. Малахов Ю.А. Лептоспироз животных / Малахов Ю. А., Панин А. Н., Соболев Г. Л.; под ред. Ю. А. Малахова. – Ярославль: «Диа-Пресс». – 2001. – 294 с. 6. Медична

статистика України (2000-2006 рр.) – Київ: Центр медичної статистики МОЗ України, 2006. – 384 с. 7. Черкасский Б. Л. Эпидемиология зоонозов / Б. Л. Черкасский // Руководство по зоонозам; под ред. В. И. Покровского. – Л.: Медицина, 1983. – С. 19–38.

Статья передана в печать 05.09.2012 г.

УДК 619:616.98:579.873.21-07636.2

ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОАКТИВНОГО И СПЕЦИФИЧЕСКОГО АЛЛЕРГЕНА ДЛЯ МАССОВОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЁЗА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Притыченко А.Н.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Ультрафилтрация туберкулопротеинов позволила разработать мембранную технологию получения аллергена для диагностики туберкулеза животных с использованием современного оборудования, которая внедрена на ГП «Витебская биофабрика».

Ultrafiltration membrane tuberkuloproteins allowed to develop technology for the production of allergen for the diagnosis of tuberculosis animals using modern equipment, which is integrated in the Enterprise "Vitebsk Biofactory."

Введение. Туберкулинодиагностика была основой программ оздоровления и определила успех их реализации. Вместе с тем, к настоящему времени, стала заметна активизация эпизоотической и эпидемической обстановки. В благополучных странах периодически отмечаются вспышки болезни, растет число реагирующих на туберкулин животных, заболеваемость людей поднимается до эпидемического порога [8, 10].

Можно предположить, что приемы борьбы с болезнью, эффективные при ее широком распространении, не дают ожидаемого эффекта в условиях превалирования скрытой туберкулезной инфекции и отмечающейся изменчивости и адаптации возбудителя [3, 5].

Расшифровка генома, новые методы исследований открыли целый ряд ранее не известных адаптационных свойств МБТ для сохранения вида в условиях химиотерапии, воздействия дезинфектантов, разрыва эпидемической цепи [3, 7].

Не только при производстве туберкулина, но и в системе мер профилактики широко используют термическую инактивацию. Считается, что не только автоклавирование при 120°C, но и пастеризация при 75°C убивает возбудитель [2]. Вместе с тем, это может быть не столь однозначно. Straus, Gamaleia еще в 1891 г. обнаружили, что автоклавированные МБТ могут вызывать у животных казеозные поражения и перитонит (некротуберкулез) [2, 10]. Grancher, Ledoux – Lebard (1901) установили устойчивость высушенного возбудителя к нагреванию до 100°C [10]. Разработка новых средств бактериологической диагностики, в частности, стимуляторов роста и питательных сред ВКГ и Микофаст для выращивания измененных (трансформированных) микобактерий туберкулеза, существенно расширила возможность изучения биологии возбудителя болезни и его устойчивости к неблагоприятным факторам [3, 5, 7]. С использованием новых питательных сред было установлено, что туберкулины содержат защитные образования в виде спор, из которых МБТ могут восстанавливать жизнеспособность в виде неокислостойчивых измененных форм [3, 7].

Сообщения о существовании у возбудителя туберкулеза спор или подобных им защитных структур появились достаточно давно [10], но только в последнее время это достоверно подтверждено с использованием современных молекулярно-генетических методов [3].

Предполагается, что автоклавирование вызывает гибель патогенных бацилл, но не предотвращает образования защитных термостабильных форм, выдерживающих высокую температуру и проходящих через стерилизующие фильтры [5]. Вероятно, в этом процессе принимают участие белки теплового шока (heat shock proteins – hsp) и другие регуляторные белки, синтез которых у микобактерий резко возрастает при подъеме температуры и они в значительных концентрациях присутствуют в туберкулинах [3].

Туберкулины строго контролируются производителями на безопасность [14], но полученные сведения о защитных структурах МБТ нельзя игнорировать. Изоляты из туберкулинов оказались способными к длительной персистенции в организме и частичному восстановлению кислотоустойчивости. Пока нет данных о возможности восстановления их патогенности, но проблема нуждается в дальнейшем изучении.

В мировой практике для диагностики туберкулеза чаще применяют PPD (Purified Protein Derivative) - белок (туберкулопротеин), выделенный химическим путем из культурального фильтрата возбудителя туберкулеза, выращенного на синтетической питательной среде. Такой туберкулин представляет смесь фракций разной молекулярной массы, в том числе и высокомолекулярных антигенов, которые снижают видовую специфичность [11, 12, 13].

Технологии производства PPD туберкулина имеют ряд недостатков: потери туберкулопротеинов (до 80%), вероятность контаминации и протеолиза, использование токсичных реагентов, загрязняющих окружающую среду [8].

В этой связи для получения очищенных препаратов туберкулина и его концентрирования предпринимались попытки использования ультрафилтрации. Описан способ получения туберкулина,

включающий выращивание штамма, автоклавирование, стерилизующую фильтрацию и ультрафильтрацию для очистки целевого продукта на мембранах со 100 и 15 kDa. После ультрафильтрации через мембраны 100 kDa ретентат отбрасывают. Фильтрат концентрируют на мембранах 15 kDa и используют в качестве целевого продукта [1, 4]. Недостаток способа - потеря фракции с массой молекул 100-300 kDa с высокой специфической активностью, что снижает выход и качество целевого продукта [6, 8]. Это было подтверждено и в наших исследованиях [8]. Вместе с тем, полученные результаты позволили предположить технологическую схему, включающую выращивание штамма *M. bovis* №8 на синтетической питательной среде, автоклавирование, стерилизующую фильтрацию и ультрафильтрацию на мембранах с порогом задержания 300 kDa, концентрирование целевого продукта на мембранах 10 kDa [6, 8].

Таким образом, несмотря на определённые успехи в получении аллергенов перспективным направлением является получение высокоактивного и специфического препарата для массовой диагностики туберкулеза животных.

Цель исследований – изучение возможности получения высокоактивного и специфического аллергена для массовой диагностики туберкулёза у крупного рогатого скота

Материалы и методы исследований. Работа выполнена на кафедре микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ, УП «Витебская биофабрика», в отделе зоонозов и разработки диагностических препаратов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Параметры ультрафильтрации отработывали на установках Minitan II S с мембранами РНТК с пределом задержания 100, 30 и 10 kDa.

На мембране 100 kDa собирали задерживаемую фракцию - ретентат, (Р100) и фильтрат (Ф100). Часть фильтрата Ф100 подвергали ультрафильтрации на мембране 30 kDa, собирая ретентат 30 (Р30) и фильтрат 30 (Ф30). Из части Ф30 на мембране 10 kDa, получены фракции Р10 и Ф10.

Путем смешивания равных объемов каждого сониката получили антиген, который на дезинтеграторе Vandelin диспергировали в эмульсии. Полученную смесь использовали для реиммунизации 2 волов-продуцентов (из расчета 200 мкг на 1 кг массы) с последующей бустер-инъекцией через 60 суток.

Туберкулины, использованные в работе:

Туберкулины вводили безыгольными инъекторами. Расстояние между точками инъекции составляло 15-20 см. Реакции учитывали через 72 ч. путем измерения утолщений кожных складок.

- стандартный раствор ППД туберкулина для млекопитающих Курской биофабрики (серии изготовленные в разные годы);

ППД Sanofi сер.02796/2

- PPD tuberculina mamifera AN5, Rosenbusch, Argentina, 3412487 H, SENASA 121 12/06 ELAB;

Первой контрольной серией, которую стандартизированной по международному эталону была серии 37 TO. В работе использовали 1st International standard PPD *M. bovis* (IS PPD), полученный из NIBSC. 1 ампула эталона содержала 1,8 мг туберкулопротеина с активностью 58000 IU. При добавлении в ампулу 1,8 мл растворителя получали раствор с концентрацией 1 мг/мл или 32500 IU/мл.

Для оценки эффективности технологии *M. bovis* 8 выращивали на среде Сотона при 37° С 8 недель, инaktivировали автоклавированием при 121° С 30 мин. Бактериальную массу отделяли фильтрацией через «грубый» и стерилизующий фильтры. Культуральный фильтрат (0,3-0,5 мг/мл) подвергли ультрафильтрации через мембраны РТМК 300К (РТМКОМР04) с задерживающей способностью 300 kDa до уменьшения объема ретентата (задерживаемой фракции Р300) не более, чем в 20 раз.

Полученный фильтрат (Ф300) концентрировали на мембранах с пределом задержания 10 kDa до концентрации туберкулопротеинов 0,6±0,18 мг/мл. Концентрат стабилизировали добавлением фенола, глицерина и твина 80 (соответственно 0,5%, 10% и 0,001%).

Результаты исследований. Полученный образец (туберкулин очищенный серия TO-00) был проверен на активность по ГОСТ 16739-88 в сравнении с ППД туберкулином Sanofi phlaxia сер.02796/2 и ППД Курской биофабрики на морских свинках и крупном рогатом скоте (таблицы 1 и 2).

Как видно из таблицы 1, сумма диаметров папул у морских свинок и, следовательно, активность TO-00 и ППД Sanofi (50000 ME/мл) существенно не различалось. По ГОСТ 16739-88 активность TO-00 составила 151:149 x 50000 M.E. = 50650 ME в 1 мл. Результаты оценки зависимости диаметра папул от логарифма дозы представлены на рис. 38. Как видно, линии активности накладывались друг на друга, что также свидетельствует о равной активности сравниваемых препаратов.

Таблица 58

Активность TO-00 на морских свинках, сенсibilизированных *M. bovis* BCG -1

Номера животных	Диаметр папул в мм через 24 ч после введения			
	ППД туберкулина Sanofi сер.02796/2 (1 мг/мл)		Испытуемая серия TO-00	
	100 ME	10 ME	1 разведение	2 разведение
1	9	9,5	9	6
2	15	8	16	9
3	13	7	14	11
4	12	11	13	10
5	10	6,5	11	7
6	8	6,5	9	5
7	9	5	9	5
8	12	7,5	9	8

М	11	7,63	11,3	7,63
Сумма диаметров	149		151	

При испытании на крупном рогатом скоте, зараженном *M. bovis* VCG (табл. 2), в 4 случаях реакции на контрольную серию ППД Курской биофабрики были интенсивнее, в 4 случаях менее интенсивными, чем на ТО, что при интерпретации реакций по ГОСТ 16739-88 указывает на их равную аллергическую активность.

Изучение специфичности ТО-00 проведено в сравнении с ППД серии 11 Курской биофабрики в длительно благополучном по туберкулезу стаде. Установлено, что из 102 обследованных коров реакция на туберкулины отмечена у 5 животных (табл. 38).

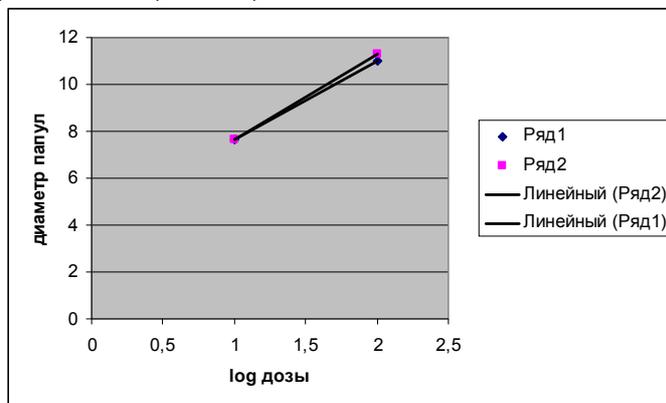


Рис. 38. Зависимость диаметра папул от логарифма дозы ППД туберкулина Sanofi и ТО-00 при введении морским свинкам, сенсibilизированным *M. bovis* VCG -1

Таблица 59

Интенсивность реакций у крупного рогатого скота, инфицированного *M. bovis* VCG -1 на ТО-00 и ППД туберкулинов для млекопитающих

№ животного	Доза	Утолщение кожных складок в мм через 72 ч		Оценка интенсивности реакций
		ППД серии 20	ТО-00	
3685	5000МЕ	8	9	+
3776	5000МЕ	18	7	-
3212	10000МЕ	14	11	-
4783	10000МЕ	2	3	+
3837	10000МЕ	14	6	-
3246	10000МЕ	18	16	-
3609	10000МЕ	12,5	16	+
9758	10000МЕ	8	10,5	+

Таблица 60

Сравнение специфичности ТО-00 и ППД туберкулина Курской биофабрики в длительно благополучном по туберкулезу стаде

№ коровы, кличка	Утолщения кожных складок через 72 ч (в мм)	
	ППД сер.11 5000МЕ	ТО-00 5000МЕ
Мечта	3	2
316	5	4
Фея	6	6
Рада	4	3
929	4	2

Как видно из таблицы 59, все 5 выявленных коров реагировали на ППД туберкулин с утолщением кожной складки на 3 мм и более. Но только 3 коровы реагировали на ТО-00, что указывает на его большую специфичность (на 40%).

Для оценки материального потока и баланса туберкулопротеинов при воспроизведении метода, 10 л культурального фильтрата с содержанием туберкулопротеинов 0,25 мг/мл или 2500 мг во всем объеме подвергли ультрафильтрации через мембраны РТМК 300К. В результате было получено 500 мл ретентата (удаляемой фракции) и 9500 фильтрата. Содержание туберкулопротеинов в ретентате составило 0,6 мг/мл или 300 мг в общем объеме. Полученный фильтрат (9500 мл) содержал 2200 мг туберкулопротеинов (0,23 мг/мл).

9500 мл фильтрата концентрировали на мембранах РТМК ОМР04 с пределом задержания 10 kDa до объема 3166 мл (в 3 раза). В полученном концентрате содержание туберкулопротеинов составило 0,66 мг/мл (всего 2089 мг).

В кожном тесте на морских свинках активность 1 мл полученного продукта составила 50650 МЕ, т.е. он отвечал требованиям ГОСТ 16739-88. Полученный объем содержал 3166 мл : 0,2 мл = 15830

диагностических доз. Следовательно, из 10 литров культурального фильтрата удалось получить 15830 доз туберкулина, что на 40-50% больше, чем по традиционной методике получения ППД туберкулина.

На основании проведенных исследований была разработана промышленная технология получения туберкулина очищенного для млекопитающих, которая была внедрена на реконструированном ГП «Витебская биофабрика».

Заключение. Последовательная ультрафильтрация как негетерогенного, так и автоклавированного культурального фильтрата *M. bovis* на мембранах с пределом задержания 100, 30 и 10 kDa не позволяет получить фракцию, которую можно использовать в качестве диагностикума. При последовательной ультрафильтрации культурального фильтрата *M. bovis* на мембранах с пределом задержания 100, 30 и 10 kDa отмечена тенденция роста видовой специфичности с уменьшением размера молекул. Ультрафильтрация культурального фильтрата *M. bovis* на мембранах с пределом задержания 300 kDa позволяет разделить его на высокомолекулярную фракцию (ретентат) с массой молекул более 300 kDa, в которой концентрируется основная масса низкоспецифичных перекрестно реагирующих антигенов и фильтрат с массой молекул менее 300 kDa с видовой специфичностью в каждой пробе, превосходящей ППД туберкулин. Изучение эффективности ультрафильтрации для очистки туберкулопротеинов позволило разработать мембранную технологию получения аллергена для диагностики туберкулеза животных с использованием современного оборудования, которая внедрена на ГП «Витебская биофабрика».

Литература. 1. Безгин, В.М. Совершенствование промышленной технологии (ППД) туберкулина и его биохимическая характеристика : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.03 / В.М. Безгин ; ВАСХНИЛ. – Москва, 1990. – 27 с. 2. Василев, В.Н. Микобактериозы и микозы легких / В.Н. Васильев // София : Медицина и физкультура. - 1971. - С. 9-13, 30-37, 42-53, 181-202, 205-227, 231-271. 3. Власенко, В.В. Микробиология туберкулеза в фокусе проблем современности / В.В. Власенко. – Винница : «Гипанис», 1999 – 224 с. 4. 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. 5. Леммиш, А.П., Выявление адаптивных форм микобактерий в туберкулинах Современные проблемы инфекционной патологии человека / А.П. Леммиш, Т.П. Новик, Архипов И.Н., Притыченко А.Н., Власенко И.Г. // Сборник научных трудов. - Выпуск 1. - Минск.- «Белпринт», 2008. - с. 227-230. 6. Лысенко, А.П. Антигены *M. bovis* и атипичных микобактерий, изучение и применение для дифференциальной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота : автореф. дис. ... докт. вет. наук : 16.00.03 / А.П. Лысенко ; Бел. НИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. - Мн., 1994. - 35 с. 7. Лысенко, А.П. Туберкулез животных и человека в свете новых данных о возбудителе болезни / А.П. Лысенко // Ветеринарная наука – производству. Научные труды РНИУП ИЭВ, 2005. - Т. 37. – С. 73-78. 8. 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. 9. Шаров, А.Н. Аллергическая диагностика туберкулеза у животных : повышение её эффективности : автореф. дис. ... докт. вет. наук : 16.00.03 / Всесоюзный ин-т экспериментальной ветеринарии. - М., 1989. - С. 9-10, 32-34. 10. Юсковец, М.К. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птиц / М.К. Юсковец. – Минск : Ураджай, 1963. - 448 с. 11. Dorset, M. A Comparison of Koch's old Tuberculin with a New Synthetic Medium Tuberculin. / M. A Dorset // J. Amer. Vet. Med. Ass., V. 84. 1934, P. - 439-449. 12. Green, H. Weybridge PPD tuberculins / H. Green // The Veterinary Journal 102, 1946. – P. 267-268. 13. Haagsma, J. A comparison of the relative potencies of various bovine PPD tuberculins in naturally infected tuberculous cattle / J. Haagsma [et al.] // J. Biol. Stand. –1982. – Vol. 10. - P. 273-284. 14. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals, 5th edition, 2004.

Статья передана в печать 18.09.2012 г.

УДК 619:579.873.21

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ППД ТУБЕРКУЛИНА И АВТОКЛАВИРОВАННОГО КУЛЬТУРАЛЬНОГО ФИЛЬТРАТА *MYCOBACTERIUM BOVIS* В ИФА И В КОЖНОЙ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПРОБЕ НА МОРСКИХ СВИНКАХ

Притыченко А.Н.

Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

Автоклавированные культуральные фильтраты Mycobacterium bovis 8 содержат на 11 - 22% больше перекрестнореагирующих компонентов, чем ППД туберкулин, их перекрестная активность в кожной аллергической пробе не отличается от ППД туберкулина. Повышение специфичности туберкулина эффективнее за счет группового фракционирования и удаления высокомолекулярной фракции, а также удаления общеродовых антигенов биоспецифическим методом.

Autoclaved Mycobacterium bovis 8 culture filtrate contains to 11 - 22% more crossreacting components than PPD tuberculin, their activity in the cross-patch test is no different from PPD tuberculin. Increasing the specificity of the tuberculin is more efficient through group fractionation and removal of high molecular weight fraction, and the removal of comongeneric antigens by biospecific method.

Введение. Туберкулез остаётся серьёзной проблемой в инфекционной патологии человека и животных во всём мире. В нашей стране благополучие по туберкулезу обеспечивается проведением плановых массовых мероприятий [2, 5, 6].

Для обеспечения противотуберкулёзных мероприятий в настоящее время используется аллергическая проба с туберкулином очищенным для млекопитающих производства Витебской биофабрики [4, 5].

Основной проблемой туберкулинодиагностики считаются неспецифические (парааллергические) реакции, т.е. реакции, возникающие у животных без туберкулезных изменений и часто с отрицательными результатами бактериологического анализа. Еще в 30-е годы прошлого века такие реакции начали связывать с инфицированием животных НТМБ, имеющим общие антигены с МБТ [7]. Однако, ранее использовавшийся ГОСТ 16739-88 оценки качества ППД туберкулина даже не предусматривал параметра видовой специфичности. Этот параметр рекомендован МЭБ и выражается уровнем активности аллергена в гетерологичной системе, который не должен превышать 10 % от уровня активности равной дозы гомологичного (по отношению к сенсibiliзирующему агенту) туберкулина [10, 14].

В рамках традиционных технологий решить проблему существенного повышения специфичности туберкулинов не удастся, поэтому с середины 20 века были начаты исследования по выделению видоспецифичных антигенов МБТ [4, 8, 12, 13]. Несмотря на значительный прогресс в этом направлении, ни один из очищенных физико-химическими методами препаратов антигенов МБТ не был внедрен в практику диагностики туберкулеза крупного рогатого скота. Это касается и индивидуальных рекомбинантных антигенов и их коктейлей [1, 3, 4].

Вместе с тем, с точки зрения создания новых технологий получения более специфичных туберкулинов, интерес представляют исследования по групповому фракционированию антигенов МБТ. Впервые, R. Moulton, T. Ditz, S. Marcus (1972) при фракционировании PPD-S на сефадексе G-200 установили, что основная часть туберкулиноактивных веществ, дающих перекрёстные реакции у морских свинок, сенсibiliзированных *M. kansasii*, элюируются в I пике с массой молекул более 200 кДа [9]. Если для фракционирования использовали сефадекс G-150, специфичность высокомолекулярного пика была несколько выше за счет присутствия в нем молекул меньшего размера [3, 12]. Таким образом, удалением высокомолекулярной фракции удавалось достоверно повысить специфичность целевого продукта, хотя получить строго специфичный препарат было проблематично, даже при использовании дополнительных этапов и методов очистки [4, 5].

Масштабное использование гель-фильтрации в технологии получения туберкулина оказалось не возможным из-за малого объема очищаемого материала и длительности процесса. Только развитие техники ультрафильтрации, позволяющей разделять большие объемы биологических жидкостей, сделало перспективным процесс фракционирования по размерам молекул технологичным приемом [5].

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, сенсibiliзированных *M. kansasii* [4]. А.П. Лысенко (1994), при использовании этого принцип, получила высокоспецифичный аллерген для крупного рогатого скота с видовой специфичностью 95-98% [4, 5]. Однако отсутствие технологичных методов разделения макромолекул, не позволило организовать массовое производство препарата.

Таким образом, перспективным направлением является изучение специфической активности ППД туберкулина и автоклавированного культурального фильтрата *Mycobacterium bovis* в ИФА и в кожной аллергической пробе на морских свинках

Цель исследований - изучение специфической активности ППД туберкулина и автоклавированного культурального фильтрата *Mycobacterium bovis* в ИФА и в кожной аллергической пробе на морских свинках, что позволит повысить видоспецифичность туберкулина очищенного для млекопитающих на ГП "Витебская биофабрика".

Материалы и методы исследований. Работа выполнена на кафедре микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ, УП "Витебская биофабрика", в отделе зоонозов и разработки диагностических препаратов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Использовали штаммы *M. bovis* № 8, *M. bovis* Vallee, полученные в 1971г. из ВГНКИ депонированные в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», штамм *M. bovis* БЦЖ-1 246 пассажа Государственного научно-контрольного института им. Тарасевича (Москва), а также штаммы *M. bovis* БЦЖ и *M. bovis* СП₂. Штаммы выращивали на среде Гельберга, для получения первичных посевных серий использовали рассев единичной типичной колонии с последующим пересевом на среды Павловского и Сотона, после чего изучали их биологические свойства.

Специфическую активность ППД туберкулина и автоклавированного фильтрата *M. bovis* 8 изучили в непрямом ИФА с бычьими антисыворотками к *M. bovis* и к смеси антигенов НТМБ, а также в кожной аллергической пробе на 96 морских свинок.

Для ИФА иммунологические панели сенсibiliзировали ППД туберкулином и автоклавированными культуральными фильтратами *M. bovis* 8 в концентрации 10 мкг/мл по белку на лунку.

Каждый препарат одновременно исследовали с бычьими нормальной отрицательной сывороткой, антисыворотками к *M. bovis* и к смеси антигенов НТМБ в разведении 1:100-1:12800.

Учитывая, что интерес представляло сравнение видовой специфичности для каждого препарата, рассчитывали индекс специфической активности (ИСА) по формуле: ОП аг с а.с. *M. bovis* : ОП аг с норм. сыв., ОП аг с а.с. НТМБ : ОП аг с норм. сыв.

В автоклавированных культуральных фильтратах определяли содержание белка и делали разведения так, чтобы они были эквивалентны по белку ППД туберкулину в разведениях 125 МЕ, 100 МЕ, 25 МЕ, 10 МЕ и 5 МЕ в 0,1 мл.

Препараты вводили внутрикожно, реакцию учитывали путём измерения диаметра папул через 24 ч.

Результаты исследований. Результаты исследований представлены в таблице 1. Установлено, что ИСА у ППД туберкулина был несколько выше (1,76), чем у культуральных фильтратов (1,4-1,6). То

есть, как это было установлено и другими методами, автоклавированные культуральные фильтраты содержали больше перекрестно реагирующих антигенов (примерно, на 11- 22%).

В кожной пробе на морских свинках, сенсibilизированных *M. bovis* и смесью культур *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum* сравнили активность и видовую специфичность ППД туберкулина и трёх серий автоклавированного фильтрата *M. bovis* 8 (1-96, 2-96, 1-98).

Таблица 61.

Индекс специфической активности ППД туберкулина и автоклавированных фильтратов *M. bovis* 8 в ИФА с антисыворотками к *M. bovis* и к смеси антигенов НТМБ

Разведение антисывороток к <i>M. bovis</i> и к НТМБ	ППД туберкулин	Автоклавированный культуральный фильтрат <i>M. bovis</i> 8 серии 1-96	Автоклавированный культуральный фильтрат <i>M. bovis</i> 8 серии 2-96	Автоклавированный культуральный фильтрат <i>M. bovis</i> 8 серии 1-98
1:100	1.1	1.1	1.1	1.1
1:200	1.3	1.1	1.2	1.3
1:400	1.4	1.2	1.2	1.3
1:800	1.7	1.3	1.4	1.5
1:1600	1.4	2.0	1.9	2.1
1:3200	2.4	1.5	1.7	1.8
1:6400	2.5	1.5	1.7	1.8
1:12800	2.3	1.7	1.8	1.8
M=	1.76	1.4	1.5	1.6

Результаты определения активности суммированы в таблицах 62 - 64 и на рис. 1 - 3. Установлено, что аллергическая активность автоклавированного культурального фильтрата серии 1-96 *M. bovis* 8 (табл. 2) была несколько ниже, чем у ППД туберкулина.

Таблица 62

Активность ППД туберкулина и автоклавированного культурального фильтрата серии 1-96 *M. bovis* 8 у морских свинок, сенсibilизированных *M. bovis* BCG

Количество м. свинок	Диаметр папул, в мм					
	ППД туберкулин			Культуральный фильтрат с. 1-96		
	125 ME	25 ME	5 ME	1 разв.	2 разв.	3 разв.
n=8	11,8	8,5	7,5	11,3	8,8	6,5

На рис.1 показана зависимость диаметра эритемы от логарифма дозы препаратов. Расстояние между линиями активности сравниваемых препаратов составило 0,11 логарифма. Следовательно, их активность различалась на $\text{antilog } 0,11 = 1,29$, что означает, что она была на 29% ниже у культурального фильтрата.

Аллергическая активность автоклавированного культурального фильтрата *M. bovis* 8 серии 2-96 была также несколько ниже, чем у ППД туберкулина (табл. 3). Как видно на рис. 2, расстояние между линиями активности сравниваемых препаратов составило 0,1 логарифма. Следовательно, их активность различалась на $\text{antilog } 0,1 = 1,26$ или на 26% она была ниже, у культурального фильтрата.

При сравнении активности автоклавированного культурального фильтрата серии 1-98 и ППД туберкулина (табл. 5), линии активности (рис.3), практически, сливались. Следовательно, активность сравниваемых препаратов была одинаковой.

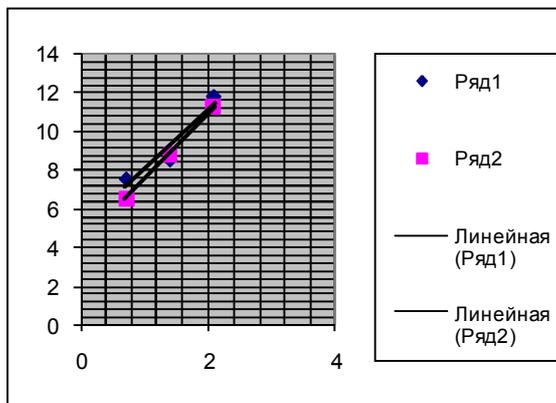


Рис.39. Зависимость диаметра папулы от логарифма дозы при введении морским свинкам, сенсibilизированным *M. bovis* BCG, ППД туберкулина (верхняя линия) и культурального фильтрата *M. bovis* серии 1-96. По оси абсцисс логарифма дозы. По оси ординат – диаметры папул.

Таблица 63.

**Активность ППД туберкулина и автоклавированного культурального фильтрата
M. bovis 8 серии 2-96 у морских свинок, сенсibilизированных M. Bovis.**

Количество м. свинок	Диаметр папул, в мм					
	ППД туберкулин			Культуральный фильтрат серии 2-96		
	125 МЕ	25 МЕ	5 МЕ	1 разв.	2 разв.	3 разв.
n=8	13,1	9,4	5,8	11,6	8,4	6,4

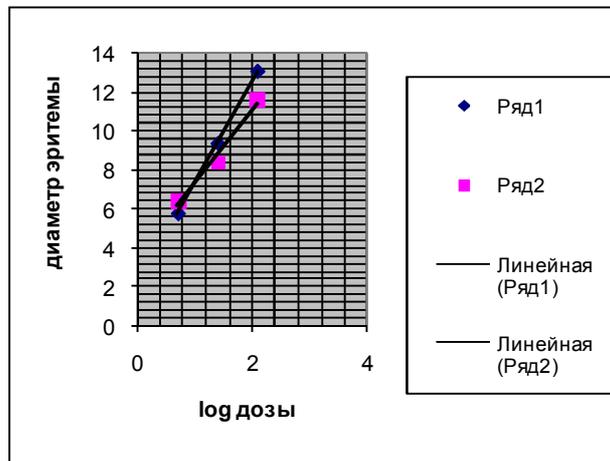


Рис.40. Зависимость диаметра папулы от логарифма дозы при введении морским свинкам, сенсibilизированным M. bovis VCG ППД туберкулина и культурального фильтрата M. bovis серии 2-96. По оси абсцисс логарифмы дозы. По оси ординат – диаметры папул.

Таблица 64.

**Активность ППД туберкулина и автоклавированного культурального фильтрата серии 1-98
у морских свинок, сенсibilизированных M. bovis VCG.**

Количество морских свинок	Диаметр эритем, в мм			
	ППД туберкулин		Культуральный фильтрат серия 1-98	
	125 МЕ	25 МЕ	1 разв.	2 разв.
n=8	15	9,5	14,9	9,5

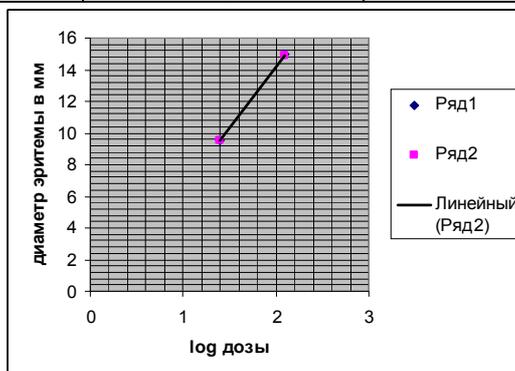


Рис.41. Зависимость диаметра папулы от логарифма дозы при введении морским свинкам, сенсibilизированным M. bovis VCG ППД туберкулина и культурального фильтрата M. bovis серии 1-98. По оси абсцисс логарифмы дозы. По оси ординат – диаметры папул.

Как видно из представленных выше данных, эквивалентные по содержанию белка растворы культуральных фильтратов, вызывали у морских свинок, сенсibilизированных M. bovis, близкие по интенсивности реакции с ППД туберкулином. То есть, химическая очистка существенно не повышала аллергическую активность туберкулопротеинов.

Результаты изучения видовой специфичности автоклавированных культуральных фильтратов в сравнении с ППД туберкулином, представлены в таблице 5. Как видно из таблицы, культуральные фильтраты вызывали у животных, инфицированных M. bovis реакции, сопоставимые по интенсивности с ППД туберкулином и менее интенсивные перекрестные реакции у морских свинок, инфицированных НТМБ, хотя различия были не достоверными (P больше 5%).

Таким образом, исследования показали, что, несмотря на то, что в неочищенных автоклавированных культуральных фильтратах M. bovis 8 по данным ИФА содержится больше общеродовых антигенов (примерно, на 11-22%), их перекрестная активность в кожной аллергической пробе достоверно не отличалась от ППД туберкулина. Вероятно, это связано с тем, что в ИФА

перекрестные реакции проявляются за счет участия полисахаридных компонентов, которых в ППД туберкулине меньше.

Таблица 65.

Аллергические реакции у морских свинок, зараженных *M. bovis* и НТМБ на эквивалентные по белку дозы автоклавированных культуральных фильтратов *M. bovis* 8 и ППД туберкулина

Сравниваемые аллергены	Средние диаметры папул (мм)		
	<i>M. bovis</i>	НТМБ.	Контроль
ППД туберкулин серии 15 (125 МЕ)	11,8 ± 0,92	7,4 ± 0,64	менее 5 мм
Культуральный фильтрат с. 1-96	11,3 ± 0,75	6,6 ± 1,52	менее 5 мм
ППД туберкулин серии 15 (125 МЕ)	10,0 ± 0,83	4,8 ± 0,39	менее 5 мм
Культуральный фильтрат с. 2-96 ^x	7,0 ± 0,72	3,4 ± 0,2	менее 5 мм
ППД туберкулин серии 15 (125 МЕ)	13,2 ± 0,93	7,1 ± 0,7	менее 5 мм
Культуральный фильтрат с. 2-96 ^{xx}	15,3 ± 0,83	6,1 ± 0,64	менее 5 мм
ППД туберкулин серии 29 (125 МЕ)	14,3 ± 1,2	7,2 ± 0,75	менее 5 мм
Культуральный фильтрат с. 1-98	14,3 ± 0,63	5,3 ± 0,54	менее 5 мм

^x - через 25 дней после заражения;

^{xx} - через 50 дней после заражения

Заключение. Автоклавированные культуральные фильтраты *M. bovis* 8 содержат на 11 - 22% больше перекрестно реагирующих компонентов, чем ППД туберкулин, их перекрестная активность в кожной аллергической пробе не отличается от ППД туберкулина. Наиболее перспективным является повышение специфичности туберкулина за счет группового фракционирования и удаления высокомолекулярной фракции, а также биоспецифический метод удаления общеродовых антигенов. Специфическая активность ППД туберкулина и автоклавированного культурального фильтрата *Mycobacterium bovis* в ИФА и в кожной аллергической пробе на морских свинках не отличаются между собой.

Литература. 1. Безгин, В.М. Совершенствование промышленной технологии (ППД) туберкулина и его биохимическая характеристика : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16. 00.03 / В.М. Безгин ; ВАСХНИЛ. – Москва, 1990. – 27 с. 2. Болезни сельскохозяйственных животных / Науч.ред. П.А. Красочко [и др.]. – Мн.: Бизнесофсет, 2005, - 800 с. 3. 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. 4. Лысенко, А.П. Антигены *M. bovis* и атипичных микобактерий, изучение и применение для дифференциальной диагностики туберкулеза крупного рогатого скота : автореф. дис. ... докт. вет. наук: 16.00.03 / А.П. Лысенко ; Бел. НИИ экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. - Мн., 1994. - 35 с. 5. 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. 6. Сравнительное испытание отечественных и зарубежных туберкулинов для млекопитающих / Н.П. Овдиенко, [и др.] // Ветеринария. - 1989. - № 10. - С. 21 – 24. 7. Юсковец, М.К. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птиц / М.К. Юсковец. – Минск : Ураджай, 1963. - 448 с. 8. Isolation and partial characterisation of major protein antigens in the culture fluid of *M. tuberculosis* / S. Nagai [et.al.] // J.Clin.Microbiol. - 1991. - 59.1 - P. 372-382. 9. Isolation of specific and nonspecific components from purified proteins derivative / R. Moulton [et.al.] // Am. Rev. Resp. Dis. - 1972. - B. 106. - P. 213-216. 10. Manual of Diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals, 5th edition, 2004. 11. MRB 59, a widely cross-reactive protein of *Mycobacterium bovis* BCG / H. Wiker // Intern. Archives of Allergy and Applied Immunology. - 1986. - Vol 81. - P. 307-314. 12. Soluble *M. bovis* protein antigens: studies on their purification and immunological evaluation / T. Fiffis [et.al.] // Vet. Microbiol. -1994. - Vol.40 (1-2). - P. - 65-81. 13. The antigens of *Mycobacterium bovis*, strain BCG, studies crossed immunoelectrophoresis a Referens System / O. Closs [et.al.] // Scand. J. Immunol. - 1980. - Vol. 12. - P. 249-263. 14. World Health Organization (WHO) (1987). Requirements for Biological Substances No. 16, Annex : Requirement for Tuberculins. Technical Report Series No. 745, WHO, Geneva, Switzerland, 31-59.

Статья передана в печать 12.09.2012 г.

УДК619:616-091:636.2.053

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНЕЙ ТЕЛЯТ
ПРИ АССОЦИАТИВНОМ ТЕЧЕНИИ**

Прудников В.С., Казюциц М.В., Прудников А.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

При интенсивном ведении животноводства на промышленной основе на ограниченной территории содержится большое количество поголовья, что способствует быстрому распространению заразных болезней. В последние годы в инфекционной патологии все большую роль играют ассоциированные вирусные инфекции, нередко с наложением условно-патогенных болезней бактериальной этиологии. Патоморфологическая диагностика позволяет своевременно поставить диагноз и разработать лечебно-профилактические мероприятия.

With intensive livestock on a commercial basis in a limited area contains a large number of livestock, which contributes to the rapid spread of infectious diseases. In recent years, infectious diseases increasing role played by the associated viral infections, often with several layers of opportunistic diseases of bacterial etiology. Pathological diagnosis allows early diagnosis and develop a treatment and preventive measures.

Введение. Современные условия содержания животных требуют максимальной оперативности ветеринарной службы, прежде всего в быстрой и правильной постановке диагноза, поскольку от этого зависит успех проведения специальных лечебно-профилактических мероприятий по оздоровлению хозяйства или комплекса. Большая концентрация животных на ограниченных территориях влечет за собой целый ряд существенных изменений в закономерности течения эпизоотических процессов, поэтому в последние годы в инфекционной патологии все большую роль играют ассоциированные вирусные инфекции, вызванные двумя или несколькими вирусными агентами, нередко с наложением условно-патогенных болезней бактериальной этиологии.

Наиболее часто смешанные инфекции возникают в условиях крупных животноводческих комплексов, где комплектация животными проводится из различных хозяйств района и области, все это способствует усложнению эпизоотической ситуации, контаминации энтеро-, рео-, адено-, парамиксовирусами и др. На взаимоотношение вирусов, микробов и микроорганизмов сильное влияние оказывают различные стрессовые факторы: скученность, плохой микроклимат, отсутствие моциона, шум машин, тракторов, испуг, нарушение режимов кормления, болевые раздражители и др., которые вызывают ослабление иммунной защиты организма и снижение устойчивости к вирусным и бактериальным инфекциям.

Ассоциированные, смешанные инфекции протекают значительно тяжелее, более длительно с большой вариабельностью клинических признаков. При них значительно чаще возникают значительные осложнения, а также наложения бактериальных инфекций: сальмонеллеза, пастереллеза, стрептококкоза, хламидиоза и др. Нередко к этим болезням добавляется респираторный микоплазмоз. Ассоциированные инфекции представляют большие затруднения при постановке диагноза и при выборе специфических средств профилактики и лечения.

Важность и значение патоморфологической диагностики ассоциированных вирусных и бактериальных инфекций заключается в том, что каждая из этих болезней характеризуется развитием в органах и тканях больного животного не только общих патологических процессов (болезни с респираторным и диарейным синдромом), но и развитием специфических для каждого возбудителя патоморфологических изменений. В таких случаях патоморфологическая диагностика этих болезней занимает ведущее место в плане быстрой постановки предварительного нозологического диагноза, независимо от того, проводилось лечение этих животных лекарственными препаратами, или нет, что позволяет своевременно разработать лечебно-профилактические мероприятия по их ликвидации и провести дополнительное лабораторное исследование по уточнению диагноза.

Материал и методы. В нашей работе приводятся результаты патологоанатомического вскрытия трупов телят из 32 хозяйств Республики Беларусь, павших при ассоциативном течении болезней в форме патологоанатомических диагнозов, отражая по пунктам для какой болезни эти изменения характерны. Для уточнения диагноза нами проводились диагностические лабораторные исследования патматериала (вирусологическое, бактериологическое и гистологическое) в период с 19.10.2011г. по 25.07.2012г. Вскрытие трупов осуществлялось в прозектории кафедры патанатомии и гистологии УО ВГАВМ. Всего было вскрыто 58 трупов телят в возрасте от нескольких дней до 1,5 месяцев.

Результаты. В результате проведенных исследований при вскрытии трупов и гистоисследовании патматериала нами были выявлены патоморфологические изменения, характерные для ассоциативного течения инфекционных болезней у 32 телят, инфекционных и незаразных – у 5 животных, моноинфекций – у 21 теленка.

Выявленная ассоциация 3-х болезней отмечалась у 15 телят (25,9%). Количество больных телят составило: рота-, коронавирусная инфекция и сальмонеллез – 3; рота-, аденовирусная инфекция и сальмонеллез – 1; корона-, аденовирусная инфекция и сальмонеллез – 2; рота-, коронавирусная инфекция и инфекционный ринотрахеит – 3; инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея и сальмонеллез – 1; адено-, коронавирусная инфекция и беломышечная болезнь – 3; адено-, ротавирусная инфекция и инфекционный ринотрахеит – 2.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения рота-, коронавирусной инфекции и сальмонеллеза: катаральный абомазит и энтерит; серозно-гиперпластический лимфаденит брыжеечных узлов; метеоризм тонкого кишечника с некрозом эпителия и истончением стенок (ротавирусная инфекция); катаральный проктит (сальмонеллез); септическая селезенка (сальмонеллез); гиперемия десен и эрозивный стоматит (коронавирусная инфекция); зернистая дистрофия печени, почек, миокарда и гранулемы в печени (сальмонеллез); эксикоз.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения рота-, аденовирусной инфекции и сальмонеллеза: острый катаральный абомазит и энтерит; метеоризм тонкого кишечника с некрозом эпителия и истончением стенок (ротавирусная инфекция); катаральный проктит (сальмонеллез); септическая селезенка (сальмонеллез); серозно-гиперпластический лимфаденит брыжеечных узлов; серозный лимфаденит бронхиальных и средостенных узлов (аденовирусная инфекция); венозная гиперемия и эмфизематозные участки в легких (аденовирусная инфекция); зернистая дистрофия печени, почек, миокарда с наличием очагов некроза и гранулем в печени (сальмонеллез).

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения корона-, аденовирусной инфекции и сальмонеллеза: гиперемия десен и эрозивный стоматит (коронавирусная инфекция); зернистая дистрофия печени, почек, миокарда; катаральный проктит (сальмонеллез); септическая селезенка (сальмонеллез); серозно-гиперпластический лимфаденит брыжеечных узлов; серозный лимфаденит

бронхиальных и средостенных узлов (аденовирусная инфекция); венозная гиперемия и эмфизематозные участки в легких (аденовирусная инфекция); зернистая дистрофия печени, почек, миокарда и гранулемы в печени (сальмонеллез); эксикоз.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения рота-, коронавирусной инфекций и инфекционного ринотрахеита: гиперемия, некроз и эрозии в коже носового зеркала (красный нос) с наличием эрозий и очагов некроза на коже крыльев носа (ИРТ); эрозивно-язвенный стоматит (ИРТ и коронавирус) и гиперемия десен (коронавирус); острый катаральный ринит (ИРТ); эрозивно-язвенный абомазит (ИРТ и коронавирус); метеоризм кишечника с истончением стенок (ротавирус); серозно-гиперпластический лимфаденит подчелюстных (ИРТ и коронавирус) и брыжеечных узлов (при трех инфекциях); зернистая дистрофия печени, почек и миокарда (при трех инфекциях); селезенка не изменена или уменьшена (при трех инфекциях); эксикоз, общая анемия, истощение (при трех инфекциях).

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи и сальмонеллеза: эрозивно-язвенный, некротический ринит, стоматит, эзофагит (вирусная диарея); некрозы кожи задних конечностей (вирусная диарея); эрозивно-язвенный абомазит (ИРТ и вирусная диарея); острый катаральный энтерит (ИРТ) с эрозиями на слизистой оболочке (вирусная диарея); серозно-гиперпластический лимфаденит брыжеечных узлов; гиперплазия селезенки (сальмонеллез); гранулемы в печени (сальмонеллез); зернистая дистрофия печени, почек, миокарда.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения адено-, коронавирусной инфекций и беломышечной болезни: гиперемия десен и эрозивный стоматит, эрозивно-язвенный абомазит (коронавирусная инфекция); очаговая катаральная бронхопневмония с поражением верхушечных и средних долей (аденовирусная инфекция); катарально-геморрагический ринит (аденовирусная инфекция); очаговый альтеративный миокардит (беломышечная болезнь); серозно-гиперпластический лимфаденит брыжеечных, бронхиальных и средостенных узлов; зернистая дистрофия печени, почек.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения адено-, ротавирусной инфекции и инфекционного ринотрахеита: эрозивно-язвенный абомазит, острый катаральный энтерит с эрозиями (ИРТ); метеоризм тонкого кишечника с некрозом эпителия и истончением стенок (ротавирусная инфекция); серозно-гиперпластический лимфаденит брыжеечных узлов; серозный лимфаденит бронхиальных и средостенных узлов (аденовирусная инфекция); венозная гиперемия и эмфизематозные участки в легких (аденовирусная инфекция); зернистая дистрофия печени, почек, миокарда.

Ассоциативное течение 2-х болезней наблюдалось у 22 телят (38,8%). Количество больных телят составило: рота- и коронавирусная инфекции – 11; корона- и аденовирусная инфекция – 1; инфекционный ринотрахеит и респираторный микоплазмоз – 2; инфекционный ринотрахеит и коронавирусная инфекция – 2; аденовирусная инфекция и сальмонеллез – 2; коронавирусная инфекция и анаэробная энтеротоксемия – 1; рота- и аденовирусная инфекции – 1; аденовирусная инфекция и паренхиматозный зуб – 1; инфекционный ринотрахеит и беломышечная болезнь – 1.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения рота- и коронавирусной инфекций: эрозивно-язвенный стоматит и гиперемия десен, эрозивно-язвенный абомазит (коронавирус); метеоризм кишечника с истончением стенок (ротавирус); серозно-гиперпластический лимфаденит подчелюстных и брыжеечных узлов; зернистая дистрофия печени, почек и миокарда; селезенка не изменена или уменьшена; эксикоз, общая анемия, истощение.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения корона- и аденовирусной инфекций: гиперемия десен и эрозивный стоматит, эрозивно-язвенный абомазит (коронавирусная инфекция); очаговая катаральная бронхопневмония с поражением верхушечных и средних долей (аденовирусная инфекция); серозно-гиперпластический лимфаденит подчелюстных, брыжеечных, бронхиальных и средостенных узлов; катарально-геморрагический ринит (аденовирусная инфекция); зернистая дистрофия печени, почек и миокарда; истощение.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения инфекционного ринотрахеита и респираторного микоплазмоза: лобулярная катарально-фибринозная пневмония (респираторный микоплазмоз); серозно-гиперпластический лимфаденит бронхиальных и средостенных узлов (респираторный микоплазмоз); фибринозный плеврит и перикардит (респираторный микоплазмоз); гиперемия, некроз и эрозии в коже носового зеркала (красный нос) с наличием эрозий и очагов некроза на коже крыльев носа (ИРТ); эрозивно-язвенный стоматит (ИРТ); острый катаральный ринит (ИРТ); эрозивно-язвенный абомазит (ИРТ); серозно-гиперпластический лимфаденит подчелюстных и брыжеечных узлов (ИРТ); зернистая дистрофия печени, почек и миокарда; селезенка не изменена или уменьшена; эксикоз, общая анемия, истощение.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения инфекционного ринотрахеита и коронавирусной инфекции: гиперемия, некроз и эрозии в коже носового зеркала (красный нос) с наличием эрозий и очагов некроза на коже крыльев носа (ИРТ); эрозивно-язвенный стоматит (ИРТ и коронавирус) и гиперемия десен (коронавирус); острый катаральный ринит (ИРТ); эрозивно-язвенный абомазит (ИРТ и коронавирус); серозно-гиперпластический лимфаденит подчелюстных и брыжеечных узлов; зернистая дистрофия печени, почек и миокарда; селезенка не изменена или уменьшена; эксикоз, общая анемия, истощение.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения аденовирусной инфекции и сальмонеллеза: острый катаральный абомазит и энтерит; катаральный проктит (сальмонеллез); септическая селезенка (сальмонеллез); серозно-гиперпластический лимфаденит брыжеечных узлов; серозный лимфаденит бронхиальных и средостенных узлов (аденовирусная инфекция); венозная гиперемия и эмфизематозные участки в легких (аденовирусная инфекция); зернистая дистрофия печени, почек и миокарда; гранулемы в печени (сальмонеллез); эксикоз, общая анемия, истощение.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения коронавирусной инфекции и анаэробной энтеротоксемии: гиперемия десен и эрозивный стоматит, эрозивно-язвенный абомазит

(коронавирусная инфекция); катарально-геморрагический, некротический энтерит и колит (анаэробная энтеротоксемия); серозно-геморрагический лимфаденит брыжеечных узлов (анаэробная энтеротоксемия); зернистая дистрофия печени, почек и миокарда; селезенка не изменена или уменьшена; эксикоз.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения рота- и аденовирусной инфекций: метеоризм тонкого кишечника с некрозом эпителия и истончением стенок (ротавирусная инфекция); венозная гиперемия и эмфизематозные участки в легких (аденовирусная инфекция); серозно-гиперпластический лимфаденит брыжеечных узлов; серозный лимфаденит бронхиальных и средостенных узлов (аденовирусная инфекция); зернистая дистрофия печени, почек и миокарда; селезенка не изменена или уменьшена; эксикоз.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения аденовирусной инфекции и паренхиматозного зоба: венозная гиперемия и эмфизематозные участки в легких (аденовирусная инфекция); серозный лимфаденит бронхиальных и средостенных узлов (аденовирусная инфекция); паренхиматозный зоб; зернистая дистрофия печени, почек и миокарда; селезенка не изменена или уменьшена; эксикоз.

Патологоанатомический диагноз ассоциативного течения инфекционного ринотрахеита и беломышечной болезни: гиперемия, некроз и эрозии в коже носового зеркала (красный нос) с наличием эрозий и очагов некроза на коже крыльев носа (ИРТ); эрозивно-язвенный стоматит (ИРТ); острый катаральный ринит (ИРТ); эрозивно-язвенный абомазит (ИРТ); серозно-гиперпластический лимфаденит подчелюстных и брыжеечных узлов (ИРТ); очаговый альтеративный миокардит (беломышечная болезнь); зернистая дистрофия печени, почек и миокарда; селезенка не изменена или уменьшена; эксикоз, общая анемия, истощение.

Моноинфекции выявлены у 21 животного: ротавирусная инфекция – 5; аденовирусная инфекция – 5; инфекционный ринотрахеит – 4; коронавирусная инфекция – 3; колибактериоз – 3; респираторноинтестинальная инфекция – 1.

При гистоисследовании печени и почек у всех павших животных выявлялись патоморфологические изменения, характерные для глубокого нарушения обмена веществ. У 32% телят отмечались признаки внутриутробного, молозивного или кормового токсикоза, что привело к ослаблению организма и наслоению инфекционных болезней. Неблагополучие хозяйств по инфекционным болезням, из которых были доставлены трупы, было подтверждено в областных и районных ветлабораториях, а также на кафедре микробиологии и вирусологии УО ВГАВМ. Следует отметить, что в хозяйствах неблагополучных по инфекционным болезням нередко нарушается схема вакцинации стельных коров, а в некоторых случаях она проводится нерегулярно.

Заключение. Инфекционные болезни у телят часто протекают в ассоциации (64,7%). Основной причиной заболевания животных является нарушение технологии кормления и содержания животных, нарушение схемы или отсутствие вакцинации стельных коров.

Литература. 1. Аксенов, А.М. Проблемы патологии сельскохозяйственных животных и пути их решения / А.М. Аксенов // Актуальные проблемы патологии сельскохозяйственных животных : материалы Международной научно-практической конференции. – Минск, 2000. – С. 6–11. 2. Ананчиков, М.А. Проблемы профилактики и терапии болезней молодняка сельскохозяйственных животных / М.А. Ананчиков // Современные вопросы патологии сельскохозяйственных животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 23-24 октября 2003 г. – Минск: Бизнесофсет, 2003. – С. 20-21. 3. Выращивание и болезни телят (кормление, диагностика, лечение и профилактика болезней) / В.С. Прудников [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2010. – 372 с. 4. Коваленко, Я.Р. Пути повышения эффективности специфической профилактики инфекционных болезней животных / Я.Р. Коваленко // Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных : материалы Международной научно-практической конференции (Москва, 16-17 мая, 2006г.) – Москва : ИзографЪ, 2006. – С. 27–40. 5. Красочко, А.П. Актуальные проблемы эпизоотологии и диагностики особо опасных инфекционных болезней животных и птиц в Республике Беларусь / А.П. Красочко, А.А. Гусев // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология и санитария. – 2008. – № 1. – С. 4–8. 6. Морфология воспаления и иммунитета у животных при вакцинациях и болезнях / В.С. Прудников [и др.] // Ветеринарная наука – производство / Институт экспериментальной ветеринарии НАН Беларуси – Минск, 2005. – Вып. 37. – С. 95–102. 7. Прудников, В.С. Роль патоморфологических исследований в диагностике инфекционных болезней животных при ассоциативном течении / В.С. Прудников // Учебные Записки / УО ВГАВМ. – Витебск, 2005г. – Т. 41, вып. 2, ч. 1. – С. 46–47. 8. Справочник по наиболее распространенным болезням крупного рогатого скота и свиней / П.А. Красочко [и др.]. – Смоленск, 2003. – 828 с.

Статья передана в печать 19.09.2012 г.

УДК 57.083.132

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ СУХОЙ ЖИВОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ТЕЛЯТ ИЗ ШТАММА SALMONELLA DUBLIN №160

Самуйленко А.Я., Еремец В.И., Павленко И.В., Меньшенин В.В., Бобровская И.В.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности РАСХН РФ, Россия, Московская область, пос. Биокотбината

В статье представлены материалы по определению основных параметров культивирования Salmonella dublin №160 для изготовления сухой живой вакцины против сальмонеллеза телят.

The article provides materials to determine the basic parameters of the cultivation of Salmonella dublin № 160 to manufacture dry living vaccine against salmonella calves.

Введение. Сальмонеллез животных широко распространен в мире и наносит значительный экономический ущерб хозяйствам. Снизить потери позволяют вакцины, разработанные против данного заболевания. Технология изготовления этих препаратов нуждается в совершенствовании таких процессов, как культивирование, стабилизация препарата и др.

В борьбе с сальмонеллезом телят, наряду с общими санитарно-гигиеническими мерами, большое значение имеет специфическая профилактика. Для иммунопрофилактики сальмонеллеза телят применяется в основном инактивированная концентрированная формолквасцовая вакцина. Создание новых, более эффективных профилактических препаратов, было и остается актуальной задачей. Число пероральных живых вакцин против сальмонеллеза сельскохозяйственных животных, используемых в практике, относительно невелико. В этой связи весьма актуальна разработка препарата для профилактики сальмонеллеза телят [1].

Существующая технология изготовления вакцины против сальмонеллеза телят из штамма *Salmonella dublin* № 160 малопродуктивна и неэффективна. Культивирование штамма проводится поверхностным способом на плотной питательной среде в колбах или в жидкой питательной среде в биореакторах, однако процесс длителен, выращивание составляет 18-24 ч, процесс неуправляем по основным технологическим параметрам.

Целью данного исследования являлась разработка глубинного периодического управляемого культивирования *S. dublin* штамм №160.

Материалы и методы. Исследования по разработке условий культивирования сальмонелл из вакцинного штамма № 160 осуществляли в лабораторном ферментере АНКУМ-2М, оснащенный системами автоматического контроля и регулирования основных параметров культивирования (температура, pH, eH, pO₂). Показатели периодического роста микроорганизмов (длительность фаз роста, максимальная удельная скорость роста) определяли графическим методом [3].

Процесс осаждения бакмассы осуществлялся на лабораторных центрифугах К-70Д и S-60.

Экспериментальные образцы сухой вакцины готовились с использованием сахарозо-желатиновой защитной среды высушивания.

Сушку вакцины проводили на установке полупромышленного типа ТГ-50.2.

Культуры сальмонелл исследовались по следующим показателям: морфология, оптическая плотность, жизнеспособность.

Результаты исследования. Были проведены исследования процесса периодического неуправляемого культивирования штамма *S. dublin* № 160 в жидкой питательной среде.

По результатам предварительных культивирований сальмонелл в лабораторных ферментерах, анализа динамики периодического выращивания бактерий был разработан режим глубинного управляемого периодического культивирования [2].

Культивирование осуществляют следующим образом.

В стерильный ферментер, который снабжен системой автоматического контроля и регулирования основных технологических параметров (температура, обороты мешалки, pH, pO₂, eH), загружают жидкую питательную среду на основе перевара Хоттингера.

Готовая стерильная питательная среда должна содержать 160 - 180 мг% аминного азота и иметь pH 7,6 - 8,0 ед. pH.

В ферментере с питательной средой инокулируют 18-24-часовую матриксную культуру сальмонелл, выращенную в жидкой питательной среде, по составу аналогичной среде культивирования, в соотношении 5-10% от объема питательной среды в ферментере, и культивируют при (37±1) °С в течение 8-10 часов.

После засева ферментера окислительно-восстановительный потенциал (eH) культуральной жидкости снижают до (-140) - (-120) мВ, путем выдержки культуры без подачи воздуха на аэрацию и выключенной мешалке, после чего до окончания процесса культивирования с помощью изменения расхода воздуха на аэрацию и скоростью вращения мешалки поддерживают парциальное давление растворенного кислорода (pO₂) в культуральной жидкости на уровне (15±5) % от насыщения кислородом воздуха, pH культуральной жидкости регулируют на уровне (7,6-7,8) ед. pH подачей 10% -ного раствора NaOH, а дробную подачу осуществляют 40% раствором глюкозы дозами до концентрации (0,1-0,2) % при лимитировании роста сальмонелл глюкозой, характеризующимся резким повышением pO₂ при неизменных расходе воздуха и оборотах мешалки и прекращением снижения pH культуральной жидкости.

Общая концентрация сальмонелл по окончании культивирования составляла 40 - 60 млрд. м.к./см .

Длительность фазы приспособления при культивировании сальмонелл штамма *S. dublin* №160 по экспериментальному режиму, определенная по кривой изменения концентрации жизнеспособных сальмонелл, составляла 0,45 часа, продолжительность экспоненциальной фазы роста - 3,8 часа, а максимальная удельная скорость роста 0,63 ч⁻¹.

Полученную бактериальную культуру концентрируют, осадок смешивают с защитной средой высушивания. После тщательного перемешивания смешанную с защитной средой высушивания бактериальную суспензию расфасовывают с соблюдением условий асептики в стерильные флаконы и проводят ее лиофилизацию [4,5].

Биологические свойства и морфология выращенных сальмонелл в процессе глубинного культивирования были типичными для *S. dublin*.

Заключение. Таким образом, показана перспективность процесса управляемого периодического культивирования *S. dublin* шт. № 160 в жидкой питательной среде.

Определены основные параметры роста *S. dublin* шт. № 160 - pH, pO₂ и eH и разработан процесс управляемого периодического культивирования их по значимым технологическим параметрам.

Разработанный режим управляемого культивирования сальмонелл позволил увеличить максимальное накопление бактерий до 40 - 60 млрд. м.к./см и сократить время культивирования с 18- 24 до 8 - 10 часов;

Биологические свойства и морфология выращенных сальмонелл в процессе управляемого глубинного культивирования были типичными для *S. dublin*.

Литература. 1. Бирюков В.В., Кантере В.М. Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза. М., Наука, 1985: 293с. 2. Воронин Е.С. Иммунология. - М.: Колос-пресс, - 2002. - 406 с.3. Кантере В.М. Теоретические основы технологии микробиологических производств. М., Агропромиздат. 1991: 272 с. 4. Нежута А.А., Токарик Э.Ф., Самуйленко А.Я., Безгин В.М., Сербис Е.С. Теоретические и практические основы технологии сублимационного высушивания биопрепаратов. Курск. Издательство Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2002: 240 с. 5. Самуйленко А.Я., Рубан Е.А. Основы биотехнологии производства биологических препаратов. (Теоретические основы, оборудование, технологические линии). М., 2000: 782с.

Статья передана в печать 05.09.2012 г.

УДК 657.866-453-585.355

Источник и факторы, способствующие передаче вируса африканской чумы свиней

***Смирнов А.М., **Бутко М.П.**

**Россельхозакадемия,*

***ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН*

В статье представлен информационно-аналитический обзор, касающийся источников и факторов передачи вируса африканской чумы свиней.

The article provides information and analysis on the sources and the transfer of African swine fever virus.

Введение. Африканская чума свиней (лат. *Pestis africana suum*), африканская лихорадка, восточноафриканская чума, болезнь Монтгомери высококонтагиозная вирусная болезнь свиней, характеризующаяся лихорадкой, цианозом кожи и обширными геморрагиями во внутренних органах. Относится согласно Международной классификации к группе особо опасных заразных болезней животных. Для человека африканская чума свиней опасности не представляет. К экспериментальному заражению невосприимчивы взрослые козы, кошки, КРС, собаки, белые мыши, крысы, морские свинки, куры, голуби, овцы, лошади, ежи; в опытах Коваленко Я.Р. и соавт. (1972) у кроликов после интраперитонеального заражения штаммом Лиссабон АЧС отмечались характерные изменения крови, а у козлят 4-6 - месячного возраста через 21 день после заражения наблюдалось повышение температуры, диарея, гипертермия.

Возбудитель африканской чумы свиней - ДНК-содержащий вирус семейства *Asfarviridae*, рода *Asfivirus*; размер вириона 175 - 215 нм.

Характеризуется выраженной вариабельностью вирулентных свойств, высокоустойчив к факторам среды: сохраняется в диапазоне рН от 2 до 13.

Важнейшей эпизоотологической особенностью («коварством») африканской чумы свиней является чрезвычайно быстрое изменение форм течения инфекции среди домашних свиней от острого со 100 % летальностью до хронического и бессимптомного носительства и непредсказуемого скрытого распространения. Так, Макаров В.В. с соавторами (2009,2011), говоря об АЧС как о наиболее опасной трансграничной инфекции с катастрофическим потенциалом, ставит важный в практическом отношении вопрос: «Не происходит ли глобальное распространение АЧС в виде замаскированного, в «лучшем» случае, под другие инфекции с клинически и патологоанатомически сходной и нехарактерной, экстенсивной симптоматикой, или в форме мистификаций? Из этого следует единственный вывод - включать тест на АЧС в исследование всех «недиагностируемых случаев». Как отмечают авторы, в этой ситуации возможны случаи квазидиагностики (термин авторов), т.е. «недиагностируемого» сохранения и распространения АЧС в течение неопределенного времени. Такая ситуация наблюдалась в Грузии (2007), когда на первых этапах эпизоотии АЧС «проходила» и распространялась как другая инфекция (синдром послеотъемного мультисистемного истощения, вызываемого цирковирусом 2.).

Особая опасность этой вирусной болезни домашних и диких свиней состоит в том, что средств ее лечения и специфической профилактики не разработано, а поэтому основным и единственным является жесткое проведение ветеринарно-санитарных мероприятий согласно «Инструкции...» (1980).

Источник и резервуары инфекции. В естественных условиях к африканской чуме свиней восприимчивы домашние и дикие свиньи всех возрастов. Источник возбудителя инфекции - больные животные и вирусоносители. Заражение здоровых свиней происходит при совместном содержании (контакте) с инфицированными вирусоносителями.

В специальных опытах Коваленко Я.Р. и соавт.(1965) было установлено, что при скармливании двум свиньям из одной кормушки вирусосодержащего корма, последние заболели и гибли от АЧС; свиньи также погибали когда вирусный материал наносился на ссадину кожи уха.

Переболевшие свиньи являются переносчиком вируса до двух и более лет.

Основные пути выделения вируса от больных и переболевших свиней - носовые истечения, слюна, фекалии, моча, конъюнктивальный экссудат, генитальный экссудат, кровяные истечения.

Аборигенные африканские виды свиней обычно имеют субклиническую или бессимптомную форму болезни, таким образом являясь активными резервуарами болезни. Резервуаром вируса в природе являются также клещи рода *Ornitorodoros*. Так, вирус африканской чумы свиней реплицируется в организме клещей вида *Ornitorodoros moubata* в Африке и клещей *Ornitorodoros erraticus* на Иберийском полуострове. Оба вида клещей являются биологическими векторами резервуара вируса. Продолжительность их жизни в среднем составляет 10-12 лет, а в отдельных случаях достигает 25 лет. В организме клещей вирус может сохраняться многие годы и передаваться потомству трансвариально (А. Р. Basto, 2006; Sanchez - Botija C, 1962; Елсукова А.А., 2010).

Факторы передачи вируса. Установлено, что факторами передачи и путями распространения возбудителя АЧС могут быть: продукты животноводства и растениеводства, транспортные средства, корма, вода и пастбища, загрязненные выделениями больных животных, домашние и дикие животные, птица, грызуны, собаки, насекомые и кожные паразиты, трупы свиней, необезвреженные боевые и столовые отходы, навоз, подстилка, предметы ухода, технологическое оборудование, инструменты, одежда, обслуживающего животных персонала и др. Возможно передача возбудителя при проведении ветеринарных мероприятий. Я. Р. Коваленко, М. А. Сидоров и Л. Г. Бурба (1972), проводя исследования по экологии вируса АЧС, установили сроки выживаемости его в мясе, на различных объектах, что должно учитываться при проведении мероприятий по ликвидации этой инфекции.

Рассматривая факторы передачи вируса АЧС, прежде всего следует обращать внимание на продукты животноводства, у которых сроки выживаемости возбудителя этой инфекции играют немаловажную роль (если не главную). Установлено, что этому также способствует высокое содержание вируса в мясе вынужденно убитых больных свиней или подозреваемых в заболевании (6-9 Ig инфекционных единиц в 1 грамме). Так, в свинине охлажденной вирус сохранялся в течение 104-105 суток, в замороженной - 103 суток. Газаевым И. Х. (2011) была изучена сохраняемость вируса АЧС в продуктах свиного происхождения. Было установлено, что вирус АЧС (штамм «Ставрополь 2009») выявляется в пробах мяса и шпика, зараженных вирусом свиней при 22 + 27 °С в течение 16 дней; при температуре 4 6 °С - в течение 84 дней, а при минус 18 + 20 °С - в течение 118 дней (срок наблюдения). Сроки же выявления генома вируса в пробах мяса (солонина) и соленого шпика были более длительными: при температуре 22 27 °С срок хранения составил 84 дня; при 4 + 6 °С - до 270 дней; при минус 18 + 20 °С - 270 дней (срок наблюдения), т. е. по меньшей мере, в течение 9 месяцев. По данным Википедии, в Пармской ветчине вирус инактивируется только спустя 300 суток, а в таких национальных испанских продуктах, как вяленый хамон («seggano» cured) - через 140; копченый хамон (Имерийский хамон) - 140; свиные лопатки (Иберийские свиные лопатки) - 140 и в мясе Иберийских свиных поясниц - 112 суток. В этих приведенных случаях немаловажную роль может иметь человеческий фактор, когда в нарушение «Инструкции...» свинина от инфицированных животных транспортируется (в частности, автотранспортом) за пределы очага инфекции или высылается почтой в посылках в другие регионы, благополучные по АЧС. Если продукты убоя будут распространяться антропогенным путем из зоны неблагополучной, то возникновение новых вспышек АЧС будет обеспечено!

Следует также обращать внимание на такой фактор как фекалии и моча больных свиней (вирус в них сохраняется 159 и 60 суток соответственно), которыми могут загрязняться пастбища, растения, а также посевы зерновых культур, и как следствие собираемое зерно уже может быть контаминированным вирусом АЧС.

Следует также учитывать сроки сохраняемости вируса в почве (80 -112 суток) и на различных поверхностях, где они составляют - на деревянных поверхностях до 80, кирпичях - до 120 суток; в помещениях, где содержались больные свиньи - не менее 3 недели, а по данным З. Пейсак (2008) - в загонках для свиней - 4 месяца. В случае несвоевременного и некачественного проведения дезинфекции таких помещений, возникает вероятность фактора распространения вируса кошками, птицей, инвентарем, остатками корма, обслуживающим персоналом (одежда, обувь) и другими факторами.

Известно, что вирус африканской чумы свиней длительное время (до 160 суток) сохраняет свою вирулентность и жизнеспособность в навозе: установлено, что в 1 грамме инфицированного навоза может содержаться до 1 млн. инфекционных доз вируса АЧС, способного заразить тысячи свиней. До настоящего времени нет эффективных технологий обеззараживания навоза при АЧС. Места складирования навоза в очагах АЧС посещаются мышами, крысами, птицами, размываются дождями, что способствует распространению вируса. Поэтому в системе мероприятий по предупреждению распространения африканской чумы свиней и ликвидации этого заболевания важнейшим звеном является разработка и внедрение в практику современных эффективных способов и средств обеззараживания инфицированного навоза.

В возможном распространении вируса следует учитывать фактор миграционной активности грызунов, которая достигает 7-10 км; они(грызуны) разбегаются из неблагополучного очага по АЧС в подворья ЛПХ, элеваторы, зерносклады и контаминировывают вирусом зерно. Необходимо иметь эффективные средства и разработать технологию дератизационных мероприятий непосредственно в очаге АЧС перед уничтожением больных свиней, а после освобождения помещения следует проводить одновременно их дезинфекцию и дезакаризацию.

Распространение вируса АЧС возможно через контаминированный вирусом транспорт. Транспорт становится фактором распространения вируса в случаях перевозки свиней в неблагополучных зонах по АЧС, а также и зерна, убираемого с полей, инфицированного экскрементами больных диких кабанов (слюна, моча, кал). После каждого рейса перевозки груза, транспорт должен подвергаться дезинфекции. Необходимо контролировать транспорт, выходящий из зон, неблагополучных по АЧС. Как справедливо замечают Гусева Е.В., Гусева А.А., Бохан С.А. (2007), «занос возбудителя в незараженные регионы происходит также через контаминированные продукты из свиного мяса и отходы пищи при перемещении людей самолетами, речными и морскими судами, железнодорожным и автомобильным транспортом».

Говоря о факторах передачи вируса, следует иметь также факты несоблюдения ветсанправил в различных подсобных хозяйствах. Так, ГНУ Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока совместно с Управлением ветеринарии Новосибирской и Иркутской областей провели мониторинговые исследования по соблюдению ветеринарно-санитарных правил в подсобных хозяйствах воинских частей в этих областях. Установлено, что в большинстве воинских частей подсобные хозяйства не отвечают требованиям ветеринарной санитарии. Отсутствуют убойные пункты (площадки) и оборудованные места для складирования и обеззараживания навоза, биотермические ямы для утилизации трупов павших животных. Пищевые отходы не обеззараживаются, использование которых в корм свиньям, не подвергнутых термической обработке, категорически запрещается (Юдаков А.В. и соавт., 2012).

Фактором передачи возбудителя АЧС могут стать быть пастбища, на которых выпасались больные дикие свиньи, а также стать контаминированные вирусом зерно и комбикорма, пищевые отходы ресторанов, столовых, боенские отходы, пищевые отходы из районных больниц и дошкольных учреждений. На эти факторы указывают многочисленные источники (Коваленко Я.Р. и соавт., 1972; Дудников С.А. и соавт., 2011; Велик Е.В. и соавт., 2011; Петрова О.Н. и соавт., 2012; Глухова П.В., 2011; Гулюкин М.И., 2012 и др.).

В отношении фуражного зерна Департаментом ветеринарии МСХ РФ (14. 09. 2010) изданы рекомендации «Перемещение фуражного зерна и комбикормов в условиях неблагоприятных регионов Южного и Северо-Кавказского федеральных округов по АЧС», в которых рекомендуется:

- перевозки фуражного зерна, а также прошедших термообработку (70°C) комбикормов для животных, в пределах территорий субъектов Российской Федерации, где не ликвидированы очаги АЧС, могут осуществляться без ограничений с учетом карантинных мероприятий, проводимых в очагах АЧС и угрожаемых зонах в соответствии с действующей «Инструкцией о мероприятиях по предупреждению и ликвидации АЧС». При этом вывоз фуражного зерна из элеваторов, расположенных на территориях субъектов Российской Федерации, где не ликвидированы очаги АЧС, а также комбикормов, прошедших термическую обработку (70°C), с заводов, расположенных на территориях этих субъектов Российской Федерации, может осуществляться только в пределах Южного и Северо-Кавказского федеральных округов по согласованию между уполномоченными в области ветеринарии органами исполнительной власти субъектов Российской Федерации, отправляющими и принимающими груз, и соответствующими территориальными управлениями Россельхознадзора;

- перевозки фуражного зерна и кормов, прошедших термическую обработку (70°C), между субъектами Российской Федерации в пределах Южного и Северо-Кавказского федеральных округов, на территориях которых выявлялись и были ликвидированы очаги АЧС и в настоящее время нет очагов АЧС, не ограничиваются;

- вывоз фуражного зерна за пределы Южного и Северо-Кавказского федеральных округов следует осуществлять под контролем государственных ветеринарных служб соответствующих субъектов Российской Федерации и территориальных управлений Россельхознадзора исключительно на предприятия, на которых в технологии переработки имеется стадия прогрева продукта до 70°C и выше, а также надежная система охраны, позволяющая предотвратить вынос зерна за территорию предприятия;

- вывоз фуражного зерна может осуществляться исключительно железнодорожным транспортом, передвижение, место загрузки и место выгрузки которого имеется возможность контролировать. Перед загрузкой вагоны должны быть очищены и продезинфицированы.

Перед загрузкой или в процессе ее зерно должно быть пропущено через элеваторную сушку (температура воздуха - до 90°C). Вывезенное зерно не должно поступать в свободную реализацию.

Для эффективного обеззараживания зерна и зернофуража от вируса АЧС, в которых он выживает более 160 дней, перспективным является применение электромагнитных полей низкой частоты (ЭМП НЧ), обладающих высокой проникающей способностью. При этом способе не смачивается водой зерно, что не повлияет на сроки его хранения. Для решения этого вопроса актуальным является изучение возможности использования ИНЧ для инактивации вируса АЧС и обеззараживания зерна и зернофуража, контаминированного данным вирусом.

Существующий наземный метод сжигания трупов больных АЧС свиней с использованием подручных средств горения является экологически небезопасным, т. к. в период нагрева трупов происходит испарение жидкости во внешнюю среду и что нельзя исключить с этим возможный вынос вируса. Кроме того, использование автомобильных шин является опасным для окружающей среды и людей вследствие выделения большого количества диоксинов во внешнюю среду. Для эффективного уничтожения трупов свиней в очагах АЧС необходимо иметь экологически безопасный производительный способ сжигания, в частности, с применением порошкового состава фильтрационного горения контактного нагрева (ПСФГ). Температура горения ПСФГ - 2000 -2500°C. При разработке и применении технологии с использованием ПСФГ может обеспечиваться одновременное сжигание большого количества трупов свиней.

Важнейшие меры по прерыванию путей распространения вируса АЧС:

- своевременное и срочное принятие мер по проведению противоэпизоотических мероприятий в неблагоприятных пунктах и угрожаемой зоне;

- четкое выполнение инструкции в зоне заболевания, где все свиньи уничтожаются бескровным методом и утилизируются. Убой больных животных запрещается как подворно, так и на мясокомбинатах;

- на карантинированных территориях контролировать выполнение указаний, что запрещается ввоз/вывоз животных всех видов, в т.ч. птицы; заготовка и вывоз продуктов и сырья животного происхождения; вывоз продукции растениеводства; торговля животными и продуктами животного происхождения (в хозяйствах, населенных пунктах), проведение сельскохозяйственных ярмарок, выставок (аукционов) и других общественных мероприятий, связанных со скоплением людей и животных.

- исключить использование кормов животного происхождения без термической обработки для кормления свиноголовья;
- не приобретать живых свиней в местах (в т. ч. несанкционированных) торговли без ветеринарных сопроводительных документов, подтверждающих благополучие места вывоза свиней;
- убой свиней проводить только на специализированных бойнях, не допускать подворного убоя;
- во второй зоне, прилегающей к зоне неблагополучия, все поголовье свиней подвергается убою на предприятиях, а продукты убоя (мясо и субпродукты) согласно правил ветсанэкспертизы подвергаются проварке или перерабатывают на вареные сорта колбас, которые должны реализоваться на местах;
- если иметь в виду, что АЧС имеет трансграничный характер распространения, то следует четко контролировать чтобы зерно и другие продукты растениеводства не вывозились с неблагополучных районов по АЧС, в том числе при экспортных операциях, что может повлечь к распространению вируса не только на территории РФ, но и в экспортируемые страны;
- должна четко выполняться процедура компартиментализации, если хозяйство отнесено к высокому уровню защиты (IV категория);
- одним из обязательных элементов в проведении ветеринарно - санитарных мероприятий в очагах АЧС должна являться борьба с синантропными грызунами - крысами и мышами;
- не допускать через почтовые отделения отправления посылок с продуктами животноводства из зон, пораженных АЧС;
- контролировать транспортные средства в зоне неблагополучной по АЧС и выходящих из нее;
- не допускать нелегальную перевозку свиней и продукты свиноводства;
- не допускать реализацию отходов от убоя животных, отходов из столовых и ресторанов частным владельцам, предварительно не подвергнутых проварке;
- контролировать запрет выгона свиней частных хозяйств на пастбища во избежание контакта с дикими свиньями;
- обязательно постоянно проводить контроль качества проведения текущей и заключительной дезинфекции согласно существующих «Правил...»;
- проводить постоянный мониторинг диких свиней на АЧС, регулировать их численность для каждого региона (процесс депопуляции), которые могут контаминировать посевы зерновых, выделяя вирус с калом, мочой и другими отходами;
- сжигание трупов и других отходов проводить в специальных установках, которые необходимо иметь в каждом хозяйстве, что позволит перекрыть этот путь распространения вируса. Для этого можно использовать установки: «Аист - 18», выпускаемую Софринским механическим заводом Московской области; трупосжигательную печку, выпускаемой фирмой Флект - Р (г. Киев); утилизатор ИУ - 32 фирма «Буран» (г. Рязань) и другие.

Заключение. Разрабатываемые системы противоэпизоотических мероприятий по профилактики и ликвидации АЧС должны предусматривать комплексное проведение мероприятий, направленных как на источник возбудителя инфекции, так и на разрушение связей его передачи восприимчивым животным (Коваленко Я.Р. и соавт., 1972; Чепелева Е.Н., 2010; Макаров В.В., 2011; Дудников С.А. и соавт., 2011; Велик Е.В. и соавт., 2010; Бадина Н.С. и соавт., 2011; Петрова О.Н. и соавт., 2012; Гулюкин М.И., 2012 и многие др.).

Система мероприятий должна включать оперативную информацию и срочное принятие мер, комплексную диагностику, эпизоотологический мониторинг; одним из главных компонентов системы мероприятий должно являться обеззараживание окружающей среды (помещения и др. объекты), исключение из оборота инфицированных источников (кормов, пищевых отходов), а также своевременное проведение дератизации. В комплексе мероприятий предусмотреть проведение депопуляции свиней и диких кабанов в эпизоотическом очаге АЧС и угрожаемой зоне.

Следует разработать и утвердить новую инструкцию по профилактике и ликвидации АЧС с учетом накопленного опыта по мерам борьбы с АЧС.

В Российской Федерации должна быть разработана национальная система, обеспечивающая идентификацию и учет животных и продукции животноводства.

Литература. 1. Африканская чума свиней. // Википедия. [http:// sanidadanimal. info/carsas/asf-rus/caps/cap 5. html](http://sanidadanimal.info/carsas/asf-rus/caps/cap 5.html).
 2. Велик Е.В., Дудников С.А., Ляцкий М.М., Бельчихина А.В., Гуленкин В.М., Караулов А.К., Дудорова М.В. Анализ риска заноса и распространения африканской чумы свиней на территории Владимирской области. ФГУ «ВНИИЗЖ», Владимир, 2011, 99 с. 3. Газзев И.Х. Совершенствование методов индикации генома вируса африканской чумы свиней в объектах ветеринарного надзора. Автореферат... канд. биол. наук. - Покров, 2011 г. 4. Груздев К.Н., Пономарев А.Б., Иванов А.В., Белоусов В.И., Панышева О.В., Павелко В.И., Якупов М.Р. Опыт ликвидации африканской чумы свиней в Португалии. // Ветеринарный врач. 2011, №6, с.8-10. 5. Глухова П.В. План мероприятий по предупреждению распространения вируса АЧС на территории МО сельского поселения Перегребное, [http:// peregrebnoe. ru](http://peregrebnoe.ru). 6. Гулюкин М.И. История изучения африканской чумы свиней. // Ветеринария, 2012, №5, с. 53-56. 7. Гусева Е.В., Гусев А.А., Бохан С.А. Африканская чума свиней.// МНТЖ «Эпизоотология, Иммунология, Фармакология, Санитария».2007, №4, с.4-9. 8. Дудников С.А., Петрова О.Н., Коренной Ф.И. АЧС картографический анализ распространения заболевания на территории Российской Федерации. ФГУ «ВНИИЗЖ», Владимир, 2011, 107 с. 9. Елсукова А.А. Генотипирование изолятов вируса африканской чумы свиней. Автореферат... канд. биол. наук. - Покров, 2010 г. 10. Коваленко Я.Р., Бурба Л.Г., Сидоров М.А. Сохраняемость вируса африканской чумы свиней во внешней среде.// Ж. «Вестник сельскохозяйственной науки». - 1964, №3, с.62-65. 11. Коваленко Я. Р., Сидоров М. А., Бурба Л. Г. Африканская чума свиней. М., «Колос», 1972, - 200 с. 12. Коваленко Я.Р., Сидоров М.А., Бурба Л.Г. Пути заражения свиней вирусом африканской чумы. Труды ВНЭВ. М, 1965, Том XXXI, с. 336-342. 13. Макаров В.В. Африканская чума свиней. - М. Российский университет дружбы народов, 2011, - с. 269. 14. Пейсак Зигмунт. Болезни свиней. Перевод с польского языка. Потарчука Д.В. Изд-во ОАО «Брестская типография», 2008, - 424 с. 15. Петрова О.Н., Дудников С.А., Дудорова М.В. Африканская чума свиней в Российской Федерации в 2011 году. // Российский ветеринарный журнал. 2011, №2, с. 6-7. 16. Смирнов А.М., Бутко М.П. Устойчивость возбудителя и меры борьбы с

африканской чумой свиней. // *Ветеринарный врач*. 2011, №6, с. 2-7. 17. Юдаков А.В., Юшкова Л.Я., Балыбердин Б.Н., Аммиров М.А. *Ветеринарная санитария в подсобных хозяйствах воинских частей*. // РЖ «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». 2012, № 1(7), с. 53-54.

Статья передана в печать 19.09.2012 г.

УДК 619:616.98:579:842

Совершенствование метода контроля активности сыворотки поливалентной антитоксической против сальмонеллёза телят, поросят, ягнят, овец и птиц.

Ходр Мунзер, Медведев А.П., Новиков С.В.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
г. Витебск, Республика Беларусь, 210026

В статье представлены способы определения активности сыворотки, позволяющие объективно оценивать иммуногенность препарата.

The paper presents methods for determining the activity of serum, allowing objective assessment of the immunogenicity of the drug

Введение. Сальмонеллы по числу сероваров - одна из самых многочисленных групп микроорганизмов. Основными возбудителями сальмонеллёза у сельскохозяйственных животных являются следующие сероварианты бактерий: *S.choleraesuis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S.abortusovis*. Реже болезнь у животных могут вызывать сальмонеллы других серологических вариантов. Сальмонеллы патогенны не только для животных, но и для человека. Поэтому борьба с сальмонеллёзом представляет собой важную ветеринарную и медико-биологическую проблему.

Одним из исторически первых способов борьбы с сальмонеллезом явились серопрофилактика и серотерапия.

Методику получения сыворотки против сальмонеллёза животных разработал А.Г. Малявин (1967 – 1970). Им же предложены методы контроля качества препарата. Необходимо отметить, что гипериммунные сыворотки против сальмонеллёза – ценные биологические препараты, обладающие не только специфическим, но и стимулирующим действием. Сыворотки целесообразно применять для стимуляции, дезинтоксикации, парентерального питания и коррекции гомеостаза.

Биопредприятия поставляют сыворотку для нужд животноводства после контроля ее на стерильность, безвредность, активность. Активность препарата в отношении *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S.abortusovis* контролируют на морских свинках, а в отношении *S.choleraesuis* – на голубях. Морским свинкам сыворотку вводят подкожно в дозах 0,25, 0,5 и 1,0 см³. На каждую дозу используют двух животных. Голубям препарат инъецируют внутримышечно в дозах 0, 5 и 1,0 см³, используя трех голубей на дозу. Через 24 часа животных, иммунизированных сывороткой, заражают смертельной дозой сальмонелл соответствующего серовара. Одновременно заражают контрольных морских свинок и голубей (не получавших сыворотку) - по три животных каждым серотипом сальмонелл. Сыворотку признают активной, если из шести иммунизированных животных выживают не менее четырех при гибели не менее двух контрольных. Срок наблюдения за зараженными животными семь суток, считая с момента падежа контрольных морских свинок и голубей. Допускается выживание одного контрольного животного. И. П. Ашмарин и А.А. Воробьев доказали, что при использовании для оценки активности биопрепарата трех-шести животных нельзя с достоверностью отличить активную серию препарата от неактивной даже в том случае, когда все иммунизированные животные выжили, при 100%-ной гибели контрольных. Вероятность достоверности контроля препарата даже в этом случае не превышает 50-70%.

Поэтому мы поставили перед собой цель – усовершенствовать применяемый метод контроля активности сыворотки поливалентной антитоксической против сальмонеллеза телят, поросят, ягнят, овец и птиц.

Материалы и методы. В опытной работе были использованы штаммы сальмонелл: *S.choleraesuis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S.abortusovis*. Штаммы бактерий хранили на полужидком агаре в запаянных пипетках и пробирках под ватно-марлевыми пробками. Упомянутые штаммы микроорганизмов выращивали на скошенном агаре в пробирках и культуры применяли для заражения белых мышей, которых использовали для определения активности сыворотки. Белым мышам массой 18-20г сыворотку вводили подкожно в дозах: 0,1; 0,02; 0,004; 0,0008 и 0,00016 см³, задев на дозу 5-10 мышей. Спустя 2-3 часа мышам заражали внутрибрюшинно 2-3 ЛД₅₀ сальмонелл определенного серотипа. Контролем служили мышки, не получавшие сыворотки, которых заражали одновременно с пассивно иммунизированными. Учет результатов испытания активности сыворотки проводили в течение 7 дней после гибели контрольных животных. Допускали выживание в контроле не более одного животного. Величину 50%-ной иммунизирующей дозы сыворотки для белых мышей рассчитывали по Керберу и Ашмарину.

Агглютинирующую активность сыворотки определяли в реакции агглютинации (РА). Сыворотку разводили 1:25, 1:50, 1:100 и т.д. до титра. Антигеном служила взвесь инактивированных сальмонелл с содержанием 500 млн. микробных клеток в 1 см³. Антиген и каждое разведение сыворотки смешивали по 0,5 см³, т.е. в соотношении 1:1. Пробирки встряхивали до получения гомогенной смеси, выдерживали 12-

16 часов в термостате и 2-3 часа при комнатной температуре. Учет РА проводили визуально по степени просветления жидкости в пробирках и выраженности агглютината.

Результаты исследований. Применяемый метод контроля активности сыворотки не позволяет объективно оценивать качество препарата по этому показателю, так как в опытах используют недостаточное количество лабораторных животных. К тому же, голуби и морские свинки весьма устойчивы к сальмонеллам. Так, минимальная смертельная доза бактерий для голубей составляет 1,5 – 2 млрд., морских свинок – 4,5 млрд. микробных клеток. При подборе голубей и морских свинок для контроля активности не учитывают некоторую естественно приобретенную устойчивость животных к сальмонеллам, а также защитные свойства нормальной сыворотки крови волов. Известно, что из лабораторных животных наиболее чувствительны к сальмонеллам белые мыши. Их содержание и воспроизводство менее трудоемко, чем других видов лабораторных животных. К тому же, мыши не являются остродефицитными для ветеринарных лабораторий и биопредприятий. Контролировать активность сыворотки производственных серий с высокой степенью достоверности можно по величине ИД₅₀ ее для голубей, морских свинок или белых мышей. Однако, метод определения ИД₅₀ сыворотки для лабораторных животных довольно трудоемкий и дорогой. Известно, что достоверность результатов контроля не ниже 95% имеет место, когда иммуногенность препарата проверяется не менее, чем на 10 животных при условии, что 8 из 10 остаются живыми, а 8 из 10 контрольных гибнут. С учетом этого обстоятельства мы вели разработку метода контроля активности сыворотки, приемлемого для внедрения в практику сывороточного производства.

Опытным путем нами подобрана доза сыворотки, которая обеспечивала выживание не менее 8 из 10 иммунизированных при гибели 8 из 10 контрольных мышек. Такой результат был получен при иммунизации мышей сывороткой в дозе 0,004 см³. Затем мы исследовали иммуногенность сыворотки 11 производственных серий для белых мышей. Результаты опыта приведены в таблице 66.

Таблица 66

Активность сыворотки производственных серий для белых мышей.

№№ серий	Доза сыворотки (см ³)	Количество мышей на дозу	Выживаемость и падеж мышей					
			S. dublin		S. typhi-murium		S.abortusovis	
			П	В	П	В	П	В
209	0,004	10	2	8	1	9	2	8
210	0,004	10	2	8	1	9	1	9
211	0,004	10	2	8	2	8	2	8
212	0,004	10	3	7	2	8	2	8
213	0,004	10	2	8	3	7	1	9
214	0,004	10	6	4	4	6	5	5
216	0,004	10	2	8	2	8	2	8
217	0,004	10	2	8	2	8	3	7
220	0,004	10	2	8	2	8	2	8
223	0,004	10	3	7	2	8	2	8
228	0,004	10	2	8	2	8	1	9
Контроль			10	0	9	1	9	1

Примечание: П- пало, В- выжило.

Из таблицы 66 видно, что сыворотка десяти производственных серий (за исключением серии №214) обладает достаточно выраженной иммуногенной активностью. Препарат в дозе 0,004 см³ защищает от гибели 70-90% иммунизированных животных при падеже 90-100% мышей в контроле. Сыворотка серии №214 предотвращает из 10 мышек гибель только 4-6 особей.

При трехкратном исследовании активности сыворотки всех серий получили примерно одинаковые результаты, т.е. выживаемость белых мышей, колеблется в основном в пределах 80-90%, а для серии №214 – 40-60%. При этом необходимо заметить, что сыворотка серии №214 при исследовании применяемым методом признана активной.

Чтобы убедиться в действенности разрабатываемого метода при выявлении сыворотки неактивных производственных серий, мы провели следующую работу.

В остром опыте проконтролировали активность сыворотки для белых мышей серии №№ 214,216 и 3-х фальсифицированных в отношении активности проб препарата серии №217. Сыворотку фальсифицировали стерильным физиологическим раствором, который добавляли для ее разведения в количестве 20% (проба 1), 30% (проба 2) и 50% (проба 3) к объему препарата

Полученные результаты отражает цифровой материал таблицы 67.

Таблица 67

Контроль активности сыворотки на белых мышках

№№ серий и проб	Доза сыворотки (см ³)	Количество мышей на дозу	Выживаемость и падеж мышей					
			S. dublin		S. typhi-murium		S.abortusovis	
			П	В	П	В	П	В
214	0,004	10	5	5	4	6	4	6
216	0,004	10	2	8	1	9	2	8
1	0,004	10	4	6	4	6	5	5
2	0,004	10	5	5	6	4	5	5
3	0,004	10	7	3	6	4	6	4
Контроль			10	0	9	1	8	2

Примечание: П- пало, В- выжило.

Из данных таблицы 2 видно, что сыворотка серии 216 защищает от падежа 80-90% мышей, препарат серии 214 и фальсифицированная сыворотка проб 1,2 – 40-60% животных, а пробы 3 – 30-40% особей. Таким образом, метод контроля активности сыворотки на белых мышах с использованием одной дозы ($0,004 \text{ см}^3$), которая является своеобразной тест-пробой, позволяет достаточно эффективно выявлять препарат неактивных производственных серий.

Проверять иммуногенность сыворотки в отношении *S.choleraesuis* можно также на белых мышах с использованием упомянутой тест-пробы. Однако, ввиду исключительно высокой чувствительности мышей к этому сероварианту сальмонелл, мы воздержались рекомендовать этот метод контроля активности сыворотки для внедрения в практику, но не исключаем возможность использования его в научно-исследовательских целях.

Проверку активности сыворотки в отношении *S.choleraesuis* в условиях производства мы рекомендуем проводить путем постановки острого опыта, т.е. заражения 10 голубей, иммунизированных препаратом в дозе $0,5 \text{ см}^3$, и 10 голубей не получавших препарат (контроль). При этом в случае падежа не менее 8 контрольных голубей и выживании не менее 8 иммунизированных голубей, сыворотку признавать активной. Методы контроля активности сыворотки для лабораторных животных в остром опыте имеют некоторые недостатки. Так, для проведения опытов необходимо большое количество животных, которых подбирают для эксперимента по принципу аналогов, учитывая только их массу без определения естественной резистентности особей к сальмонеллам. Для заражения животных необходимо постоянно поддерживать контрольные штаммы сальмонелл и перед постановкой опыта определять вирулентность бактерий и заражающую дозу их. Все это требует значительных затрат рабочего времени, труда и материальных средств.

Поэтому наша опытная работа была направлена на определение агглютинирующей активности сыворотки, которая по данным контроля ее в остром опыте на голубях и белых мышах была признана иммуногенной (препарат серии №№ 209, 210, 211, 212, 213, 216, 220, 223). Сыворотку этих серий разводили физиологическим раствором, начиная с разведения 1:25, 1:50, 1:100, 1:200 и т.д. до титра. В качестве антигена использовали взвесь живых бактерий с концентрацией 500 млн. м.к. в 1 см^3 . Реакцию ставили классическим пробирочным методом. Положительной считали реакцию с оценкой в два плюса.

Результаты определения титра агглютининов в сыворотке производственных серий представлены в таблице 68.

Таблица 68

Агглютинирующая активность сыворотки производственных серий

№ серии	Титр агглютининов в РА к сальмонеллам			
	<i>S.choleraesuis</i>	<i>S. dublin</i>	<i>S. typhi-murium</i>	<i>S.abortusovis</i>
209	1:800	1:1600	1:1600	1:800
210	1:1600	1:1600	1:1600	1:160
211	1:1600	1:1600	1:800	1:800
212	1:800	1:800	1:1600	1:1600
213	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600
216	1:1600	1:1600	1:800	1:800
220	1:800	1:1600	1:1600	1:1600
223	1:800	1:1600	1:1600	1:1600

Из таблицы видно, что титр агглютининов ко всем четырем серовариантам сальмонелл составляет от 1:800 до 1:1600. Поэтому можно считать, что препарат с таким титром антител является вполне иммуногенным и проверка его активности на лабораторных животных не целесообразна. Титр агглютининов в сыворотке можно определить в течение суток. Постановка РА не требует сложных приборов и оборудования, дефицитных компонентов, проста в техническом исполнении.

Общепризнано, что при многих бактериальных инфекциях в основном превалирует гуморальный иммунный ответ, а при вирусных – клеточный, и тем не менее, качество противовирусных препаратов оценивают в различных серологических реакциях: РА, РН, РИД, РИФ и других, избегая постановки острых опытов на лабораторных животных. С учетом этого обстоятельства и приведенных выше опытных данных полагаем, что активность сыворотки против сальмонеллеза животных можно оценивать в РА. Титр антител от 1:800 и выше является показателем, свидетельствующим о достаточной активности ее для практического применения.

Заключение. Результаты опытной работы позволили предложить способы контроля активности сыворотки на лабораторных животных и в реакции агглютинации.

Доказана возможность объективной оценки иммуногенности сыворотки по высоте титра антител в препарате и, следовательно, пригодности его по этому показателю для практического применения.

Литература. 1. Даровских, С.В. Поливалентная антитоксическая сыворотка против сальмонеллеза животных : автореф. ... канд. вет. наук / С.В. Даровских ; Институт экспериментальной ветеринарии им. Вышеселского. – Минск, 2009. –21 с. 2. Медведев, А.П. Производство и контроль гипериммунных сывороток и иммуноглобулина против сальмонеллеза животных : автореф. ... д-ра вет. наук / А.П. Медведев ; ВГНКИ. – Москва, 1998. – 31с.

Статья передана в печать 12.09.2012 г.

СОДЕРЖАНИЕ

Заболевания животных заразной этиологии

1. **КРИПТОСПОРИДИОЗ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, СВИНЕЙ И КУР** 4
Бородин Ю.А., С.Г. Нестерович, Сарака А.М.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
2. **ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНЫЕ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА СПЕРМЫ** 6
БЫКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СЕЗОНА ГОДА И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ
МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИБИОТИКАМ
Музыка В. П., Атаманюк И. Е., Паньч А. П., Чайковская А. И., Кушнир И. М.
 Государственный научно-исследовательский контрольный институт
 ветеринарных препаратов и кормовых добавок, г. Львов, Украина
3. **СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ В БОРЬБЕ С ЭЙМЕРИОЗОМ КУР** 9
Музыка В. П., Стецко Т. И., Калинина О. И., Мурская С. Д.
 Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных
 препаратов и кормовых добавок, г.Львов, Украина
4. **ГЕЛЬМИНТОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БИОТОПОВ КАБАНА ПОЛЕССКОГО** 13
ГОСУДАРСТВЕННОГО РАДИАЦИОННО-ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ЗАПОВЕДНИКА
Пенькевич В.А.
 У «Полесский государственный радиационно-экологический заповедник»,
 г. Хойники, Гомельская область, Республика Беларусь
5. **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ КЛОРСУЛОН 10% И КАЛЬБАЗЕН ПРИ ФАСЦИОЛЕЗЕ** 15
И ПАРАМФИСТОМАТОЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
Петров В.В., Баркалова Н.В.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
 г. Витебск, Республика Беларусь
6. **ТРИХОНЕМАТИДОЗНО-СТРОНГИЛОИДОЗНАЯ ИНВАЗИЯ ЖЕРЕБЯТ-СОСУНОВ** 19
Синяков М.П., Алисиевич И.А.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
 г. Витебск, Республика Беларусь
7. **СИМУЛИИДОТОКСИКОЗ ЖИВОТНЫХ В ПОИМЕ ПОЛЕСЬЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ** 21
Скуловец М.В., Ятусевич А.И., Каплич В.М.
8. **ВИДОВОЙ СОСТАВ ВОЗБУДИТЕЛЯ, СЕЗОННАЯ И ВОЗРАСТНАЯ ДИНАМИКА** 24
ЭЙМЕРИОЗА КОЗ
Ятусевич А. И., Касперович И. С.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
 г. Витебск, Республика Беларусь
9. **ОСОБЕННОСТИ ЭПИЗООТОЛОГИИ КАПИЛЛЯРИОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В** 26
УСЛОВИЯХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
Ятусевич А.И., Ковалевская Е.О.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
 г. Витебск, Республика Беларусь
10. **ПАЗАРИТОЗЫ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЖВАЧНЫХ В БЕЛАРУСИ** 29
Ятусевич А.И., Мироненко В.М., Кирищенко В.Г., Вербицкая Л.А., Братушкина Е.Л.,
Воробьева И.Ю.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
 г. Витебск, Республика Беларусь
11. **ВЛИЯНИЕ ОТОДЕКТОЗНОЙ ИНВАЗИИ НА ОРГАНИЗМ СЕРЕБРИСТО-ЧЕРНЫХ ЛИСИЦ И** 32
КОШЕК
Ятусевич А.И., Рубина Л.И.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
 г. Витебск, Республика Беларусь

12. **АССОЦИАТИВНАЯ ИНВАЗИЯ ТРИХОНЕМАТИДОЗОВ ЛОШАДЕЙ БЕЛАРУСИ** 35
Ятусевич А.И., Синяков М.П.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
 г. Витебск, Республика Беларусь
13. **РОЛЬ ФАРМАЦЕВТИКИ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ГОСУДАРСТВА** 38
Ятусевич И.А.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
 г. Витебск, Республика Беларусь
14. **ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ИММУНОПАТОЛОГИИ ПРИ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЯХ ЖИВОТНЫХ** 40
Ятусевич И.А.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
 г. Витебск, Республика Беларусь
15. **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА ЦЕФИНЕЛЬ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ МАРЕКА** 44
Авдосьева И. К., Остапив Н. В., Чайковская А. И., Балян О. З.
 Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок, г. Львов, Украина
16. **ИНАКТИВАЦИЯ И КОНЦЕНТРАЦИЯ АНТИГЕНА ПРИ КОНСТРУИРОВАНИИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА И БОРДЕТЕЛЛЕЗА СВИНЕЙ** 47
***Вербицкий А.А., **Финогенов А.Ю., **Толяронок Г.Е.**
 *УО «Витебская ордена «Знак Почета» академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
 **РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского НАН Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь
17. **ПРОБЛЕМА ПРИЖИЗНЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА** 50
Власенко В.В., **Лысенко А.П., ***Vroхtmeуer L., *Березовский И.В., *Власенко И.Г., *Войцицкая О.М., *Притыченко А.Н., *****Кузнецов Н.А.**
 *Винницкий государственный аграрный университет, г. Винница, Украина,
 **Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н.Вышелесского, г. Минск, Республика Беларусь,
 ***N.Y. Institute of Medical Research in Bayside, New York, USA,
 **** УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь,
 *****Гродненский государственный аграрный университет, г. Гродно, Республика Беларусь
18. **ДИНАМИКА ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРОБИОТИКА «ВЕТЛАКТОФЛОР»** 56
Гласкович А.А., Капитонова Е.А., Притыченко А.В., Аль-Акаби А.Аамер
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
19. **ИСПЫТАНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И БАКТЕРИЦИДНЫХ СВОЙСТВ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «ЭСТАВЕТ»** 61
Готовский Д.Г.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
20. **СУКЦИСАН – ЭФФЕКТИВНЫЙ ДЕЗИНФЕКТАНТ ДЛЯ САНАЦИИ ОБЪЕКТОВ ВЕТЕРИНАРНОГО НАДЗОРА** 64
Д.Г. Готовский, В.Н. Алешкевич
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
 г. Витебск, Республика Беларусь
21. **КРИОКОНСЕРВАЦИЯ ЛЕПТОСПИР** 69
***Зайцев В.В., *Усов Ю.П., **Дремач Г.Э.**
 *ГП «Витебская биофабрика»
 ** УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

22. **РЕГИДРАТАЦИЯ СУХИХ КУЛЬТУР ДЕРМАТОФИТОВ** 73
Зайцева В.В.
 РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
 г. Минск, Республика Беларусь
23. **ОПТИМИЗАЦИЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ДЕРМАТОФИТОВ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ РАЗНОГО СОСТАВА** 77
Зайцева В.В., Красочко И.А.
 РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
 г. Минск, Республика Беларусь
24. **ИММУННЫЙ ОТВЕТ У ТЕЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВИРУС-ВАКЦИНОЙ ПРОТИВ ПАРВОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТИГЕНА С РАЗЛИЧНОЙ АКТИВНОСТЬЮ С РАЗЛИЧНЫМИ АДЪЮВАНТАМИ** 81
Красочко П.А., Авласко Н.М.
 РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
 г. Минск, Республика Беларусь
25. **ХАРАКТЕРИСТИКА ИК-СПЕКТРОВ АДЪЮВАНТОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ** 84
*** Красочко П.А., ** Капуцкий Ф.Н., * Красочко И.А., ** Зубец О.В., * Аладьева Т.А**
 * РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
 ** Институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета,
 г. Минск, Республика Беларусь
26. **ОЦЕНКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ТКАНЕЙ ЖИВОТНЫХ ПРИ ВВЕДЕНИИ ВАКЦИН С МАСЛЯНЫМИ АДЪЮВАНТАМИ** 88
*** Красочко П.А., * Красочко И.А., ** Высокоморная О.В.**
 *РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
 г. Минск, Республика Беларусь
 **УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
 г. Гродно, Республика Беларусь
27. **ОЦЕНКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА С ПЕРЕВИВАЕМЫМИ КЛЕТКАМИ МДБК** 95
*** Красочко П.А., ** Чижик С.А., ** Худолей А.Л., * Станкуть А.Э., ** Дрозд Е.С.**
 *РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
 **ГНУ «Институт тепло- и массообмена имени А.В. Лыкова» НАН Беларуси,
 г. Минск, Республика Беларусь
28. **АКТИВАЦИЯ ЛЕКТИНОВЫХ БЕЛКОВ ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ ФИТОПАТОГЕННЫМ ГРИБОМ *COLLETOTRICHUM GLOEOSPORIODES*** 98
***Кубарев В. С., **Коваленок Ю.К.**
 *РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию», г. Жодино, Республика Беларусь
 **УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
29. **МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ РЕОВИРУСНОГО ТЕНОСИНОВИТА** 101
Лазовская Н.О., Прудников В.С.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
 г. Витебск, Республика Беларусь, 210026
30. **КОМПЛЕКСНАЯ ПРОФИЛАКТИКА ТРИХОФИТИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ПРИМЕНЕНИЕМ ЖИВОЙ СУХОЙ ВАКЦИНЫ И ПРЕПАРАТА ПУЛСАЛ** 104
Лазовский В.А.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»
 г. Витебск, Республика Беларусь
31. **ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ СОХРАНЕНИЯ МОЛОДНЯКА СВИНЕЙ В ОТКОРМОЧНЫХ ХОЗЯЙСТВАХ БЕЛАРУСИ** 107
Лях Ю.Г.
 Государственное научно-производственное объединение «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», г. Минск, Республика Беларусь

32. **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ БАКТЕРИОНОСИТЕЛЬНОСТИ СРЕДИ ОХОТНИЧЬИХ ЖИВОТНЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ** 112
Лях Ю.Г.
 Государственное научно-производственное объединение «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», г. Минск, Республика Беларусь
33. **ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ ВОЛОВ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПОЛИВАЛЕНТНОЙ АНТИТОКСИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ТЕЛЯТ, ПОРОСЯТ, ЯГНЯТ, ОВЕЦ И ПТИЦ.** 116
Медведев А.П., Ходр Мунзер, Грибанова М.В., Корочкин Р.Б.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
34. **МОНИТОРИНГ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СТАФИЛОКОККОВ К АНТИМИКРОБНЫМ ВЕЩЕСТВАМ** 119
Музыка В. П., Стецко Т.И., Пашковская М.В., Падовский В.Н.
 Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок, г. Львов, Украина
35. **СЕРОГРУППОВОЙ ПЕЙЗАЖ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ И ОСНОВНЫЕ ИСТОЧНИКИ ИНФЕКЦИИ ПРИ ЛЕПТОСПИРОЗАХ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ПРИЧЕРНОМОРЬЕ** 122
Наконечный И.В.
 Николаевский национальный университет им. В.А. Сухомлинского, Украина
36. **ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОАКТИВНОГО И СПЕЦИФИЧЕСКОГО АЛЛЕРГЕНА ДЛЯ МАССОВОЙ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЁЗА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА** 128
Притьченко А.Н.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
37. **СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ППД ТУБЕРКУЛИНА И АВТОКЛАВИРОВАННОГО КУЛЬТУРАЛЬНОГО ФИЛЬТРАТА МЫСОВАСТЕРИУМ BOVIS В ИФА И В КОЖНОЙ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ ПРОБЕ НА МОРСКИХ СВИНКАХ** 131
Притьченко А.Н.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь
38. **ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БОЛЕЗНЕЙ ТЕЛЯТ ПРИ АССОЦИАТИВНОМ ТЕЧЕНИИ** 135
Прудников В.С., Казючиц М.В., Прудников А.В.
 УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» г. Витебск, Республика Беларусь
39. **РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ СУХОЙ ЖИВОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ТЕЛЯТ ИЗ ШТАММА SALMONELLA DUBLIN №160** 138
Самуйленко А.Я., Еремец В.И., Павленко И.В., Меньшенин В.В., Бобровская И.В.
 ГНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности РАСХН РФ, Россия, Московская область, пос. Биокомбината
40. **ИСТОЧНИК И ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ ПЕРЕДАЧЕ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ** 140
***Смирнов А.М., **Бутко М.П.**
 *Россельхозакадемии, **Зав. лабораторией ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН
41. **СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА КОНТРОЛЯ АКТИВНОСТИ СЫВОРОТКИ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ АНТИТОКСИЧЕСКОЙ ПРОТИВ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ТЕЛЯТ, ПОРОСЯТ, ЯГНЯТ, ОВЕЦ И ПТИЦ.** 144
Ходр Мунзер, Медведев А.П., Новиков С.В.
 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, ведущее 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 архитектурный ансамбль учебных корпусов, клиник, научных лабораторий, библиотеки, студенческих общежитий, спортивного комплекса, Дома культуры, столовой и кафе, профилактория для оздоровления студентов. В составе академии 5 факультетов: ветеринарный медицины; биотехнологический; повышения квалификации и переподготовки кадров агропромышленного комплекса; заочного обучения; довузовской подготовки профориентации и маркетинга. В ее структуру также входят Лужеснянский аграрный колледж, филиалы в г. Речица Гомельской области и в г. Пинск – Брестской области, первый в системе аграрного образования НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии (НИИ ПВМ и Б).

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 более 350 преподавателей. Среди них 7 академиков и членов-корреспондентов Национальной академии наук Беларуси и ряда зарубежных академий, 20 докторов наук, профессоров, более чем две трети преподавателей имеют ученую степень кандидатов наук.

Помимо этого 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 ПВМ и Б, 24 кафедральных научно-исследовательских лабораторий, учебно-научно-производственном центре, филиалах 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 для предприятий 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, значительной 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 04 42, тел. 53 80 61 (факультет довузовской подготовки, профориентации и маркетинга); 37 06 47 (НИИ ПВМ и Б); E-mail: vsavmpriem@mail.ru.

