

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

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

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Ломако Ю.В. – кандидат ветеринарных наук, доцент

ЗАМ. ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

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

СЕКРЕТАРЬ:

Радюш И.С. – кандидат ветеринарных наук

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Борисовец Д.С. – кандидат ветеринарных наук

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

Кузьминский И.И. – кандидат ветеринарных наук

Кучинский М.П. – доктор ветеринарных наук, профессор

Лысенко А.П. – доктор ветеринарных наук, профессор

НАД НОМЕРОМ РАБОТАЛИ:

Ларькова А.Е.

Лукьянова И.А.

Пунько С.Г.

ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АВТОРАМИ МАТЕРИАЛОВ ЖУРНАЛА «ЭПИЗОТОЛОГИЯ ИММУНОБИОЛОГИЯ ФАРМАКОЛОГИЯ САНИТАРИЯ» ССЫЛКА НА ЖУРНАЛ **ОБЯЗАТЕЛЬНА**

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ

Насонов И.В. – доктор ветеринарных наук, доцент (г. Минск)

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

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

Гавриченко Н.И. – доктор сельскохозяйственных наук, доцент (г. Витебск)

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

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

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

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

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

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

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

Субботин А.М. – доктор биологических наук, профессор (г. Минск)

Ткачев А.В. – доктор сельскохозяйственных наук (г. Харьков)

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

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

ВСЕ СТАТЬИ РЕЦЕНЗИРУЮТСЯ

© «Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария»

СОДЕРЖАНИЕ**ЭПИЗООТОЛОГИЯ**

Хоченков А.А. МОНИТОРИНГ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ РАЦИОНОВ СВИНЕЙ 3

Мясцова Т.Я., Якубовский М.В., Голынец В.Г. ДИРОФИЛЯРИОЗ СОБАК В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ 9

Завгородний А.И., Позмогова С.А., Калашник Н.В. ИЗУЧЕНИЕ РОСТОВОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬТУР *MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSPECIES PARATUBERCULOSIS*, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ КОРОВ С ЛАТЕНТНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ ФОРМАМИ ПАРАТУБЕРКУЛЕЗА 14

Андрусевич А.С., Красникова Е.Л., Мальчик О.В., Стрельчяня И.И. БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МУЗЕЙНЫХ ШТАММОВ *PASTEURELLA MULTOCIDA* СЕРОВАРИАНТОВ А, В, D 21

ИММУНОБИОЛОГИЯ

Высоцкий А.Э., Лысенко А.П., Кучвальский М.В., Красникова Е.Л., Прокопенкова Т.М. МИКОБАКТЕРИИ ТУБЕРКУЛЕЗА ПОСЛЕ ЛЕТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ МОГУТ ВОССТАНАВЛИВАТЬ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ В ВИДЕ МИКОБАКТЕРИЙ С ДЕФЕКТНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ 26

Борисовец Д.С., Згиrowsкая А.А., Толяронок Г.Е., Морозов А.М., Герасименко В.И., Виршич А.В. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА «РЕСПИФАГ» НА ОСНОВЕ БАКТЕРИОФАГА И ИММУНОСТИМУЛЯТОРА НА ОБМЕННЫЕ ПРОЦЕССЫ И ИММУНИТЕТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА 36

Новикова О.Н., Ломако Ю.В., Белянко Д.Л. ВЛИЯНИЕ ПРИОБРЕТЕННОЙ *IN VITRO* РЕЗИСТЕНТНОСТИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* К ЦЕФЕПИМУ НА ПАТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА И ЭЛИМИНАЦИЮ БАКТЕРИЙ ФАКТОРАМИ ИММУНИТЕТА 44

Струк М.С. ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ТЕЛЯТ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА «ИММУНОНАНОЦИН» И ЕГО ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ 49

Борисовец Д.С., Зуйкевич Т.А., Красочко П.А., Морозов А.М., Толяронок Г.Е., Ястребов А.С. КОМПЛЕКСНЫЙ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИЙ ПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ ДВУСПИРАЛЬНОЙ РНК (ДСРНК) И ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ТЕРАПИИ ПНЕВМОЭНТЕРИТОВ ТЕЛЯТ 55

ФАРМАКОЛОГИЯ

Борисовец Д.С., Зуйкевич Т.А., Красочко П.А., Морозов А.М., Толяронок Г.Е., Ястребов А.С. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПЛЕКСНОГО ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА «НУКЛЕОЗАН» НА ОСНОВЕ НУКЛЕИНАТА НАТРИЯ И ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ 58

Дударчук А.Н., Шемелева Н.Ю. ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА «ВИРОКОКЦИД» 63

САНИТАРИЯ

Дубинич В.Н. МИКОТОКСИНЫ 70

Каменская Т.Н., Лукьянич С.А., Кривенок Л.Л., Хендогина О.В. ПРИМЕНЕНИЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «АЛЬДЕЧАС» ДЛЯ САНАЦИИ ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ПОМЕЩЕНИЙ И ПРОФИЛАКТИКИ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЙ КОПЫТЕЦ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА 78

Гудзь В.П., Белявский В.Н. КРИТИЧЕСКИЕ КОНТРОЛЬНЫЕ ТОЧКИ В УСЛОВИЯХ МОЛОЧНО-ТОВАРНОГО КОМПЛЕКСА 84

Якубовский М.В. СВЕТЛОЙ ПАМЯТИ АНТОНЮКА ВИТАЛИЯ СТЕПАНОВИЧА (К 80-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ) 92

CONTENTS**EPIZOOTOLOGY**

Hochencov A.A. MONITORING OF QUALITY AND SAFETY RATION OF PIGS 3

Myastsova T.Ya., Yakubovsky M.V., Golynets V.G. DYROPHILARIOSIS OF DOGS IN THE REPUBLIC OF BELARUS 9

Zavgorodniy A.I., Pozmogova S.A., Kalashnik N.V. STUDY OF THE GROWTH ACTIVITY OF *MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSPECIES PARATUBERCULOSIS* CULTURES ISOLATED FROM COWS WITH LATENT AND CLINICAL FORMS OF PARATUBERCULOSIS 14

Andrusevich A.S., Krasnikova E.L., Malchik O.V., Strelchenya I.I. BIOCHEMICAL PROPERTIES OF MUSEUM STRAINS *PASTEURELLA MULTOCIDA* SEROVARIANTS A, B, D 21

IMMUNOBIOLOGY

Vysotsky A.E., Lysenko A.P., Kuchvalsky M.V., Krasnikova E.L., Prokopenkova T.M. MYCOBACTERIA OF TUBERCULOSIS AFTER LETHAL INFLUENCE OF DISINFECTANTS CAN RESTORE VIABILITY AS CELL WALL DEFICIENT MYCOBACTERIA 26

Borisovets D.S., Zgirovskaya A.A., Tolyaronok G.E., Morozov A.M., Gerasimenko V.I., Virshich A.V. STUDY OF THE INFLUENCE OF THE COMPREHENSIVE PRODUCT «RESPIFAG» BASED ON THE BACTERIOPHAGE AND IMMUNITY OF THE MULTI-BATTER ON METABOLISM AND IMMUNITY OF CATTLE 36

Novikova O.N., Lomako Y.V., Belianko D.L. INFLUENCE OF ACQUIRING *IN VITRO* RESISTANCE OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* TO SEPHEPIM ON PATHOGENIC PROPERTIES AND BACTERIA'S ELIMINATION BY IMMUNITY FACTORES 44

Struck M.S. DYNAMICS OF INDICATORS OF BLOOD OF CALVES WHEN USING THE VETERINARY PRODUCT «IMMUNONANOCINS» AND ITS MEDICINAL PREVENTIVE EFFICIENCY 49

Borisovets D.S., Zuykevich T.A., Krasochko P.A., Morozov A.M., Tolyaronok G.E., Yastrebov A.S. INTEGRATED IMMUNITY MULTI-DRUG BASED ON DOUBLE-STRANDED RNA (DSRNA) AND BACTERIA LIPOPOLYSACCHARIDES FOR THE TREATMENT OF PNEUMOENTERITIS CALVES 55

FARMACOLOGY

Borisovets D.S., Zuykevich T.A., Krasochko P.A., Morozov A.M., Tolyaronok G.E., Yastrebov A.S. EFFICIENCY OF APPLICATION OF THE COMPLEX IMMUNITY OF THE «NUCLEOSAN» MULTI-PREPARATING BASIS ON THE BASIS OF SODIUM NUCLEATE AND BACTERIA LIPOPOLYSACCHARIDES 58

Dudarchuk A.N., Shchemeleva N.Y. PHARMACO-TOXICOLOGICAL VALUE OF A NEW COMPLEX DRUG «VIROCOCCIDUM» 63

SANITATION

Dubinich V.N. MYCOTOXINS 70

Kamenskaya T.N., Lukyanchik S.A., Krivenok L.L., Khendogina O.V. APPLICATION OF «ALDECHAS» DISINFECTANT FOR SANITATION OF ANIMAL BREEDING ROOMS AND PREVENTION OF PULO-NECROTIC DISEASES OF HONEY IN CATTLE 78

Gudz V.P., Belyavsky V.N. CRITICAL CONTROL POINTS IN THE CONDITIONS OF DAIRY COMPLEX 84

Yakubovsky M.V. LIGHT MEMORY OF ANTONYUK VITALIY STEPANOVICH (TO THE 80-TH ANNIVERSARY OF BIRTH) 92

УДК 636.4.085

Хоченков А.А., доктор сельскохозяйственных наук, доцент

УО «Мозырский государственный педагогический университет имени И.П. Шамякина», г. Мозырь

МОНИТОРИНГ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ РАЦИОНОВ СВИНЕЙ**Резюме**

В результате проведенного мониторинга было установлено, что наиболее проблемными при балансировании рационов свиней являются сырая клетчатка и сырой протеин. 25 % рационов поросят-отъемышей и 35 % – поросят на доращивании не соответствовали нормам по сырой клетчатке, 20 % и 25 % – по сырому протеину. В рационах свиней различных половозрастных групп концентрация микроэлементов, цинка и меди, является наиболее вариабельной: коэффициент вариации цинка – от 17,1 до 30,3 %, а меди – от 14,8 до 22,7 %. Периодичность контроля содержания сырого протеина и сырой клетчатки в рационе должна быть выше у поросят ранних возрастов, а макроэлементов (кальций и фосфор) – у холостых, супоросных и подсосных свиноматок.

Summary

As a result of the monitoring it was determined that the greatest problem while forming the balanced diet for pigs is the issue with raw fiber and raw protein. 25 % of weaning piglets and 35% of piglets at growing didn't meet the norms on raw fiber and 20, 25 % – on raw protein. The zinc and copper microelements concentration in diets for pigs of different sex and age groups came out to be the most variable. The zinc variability index was 17,1–30,3 %, and copper – 14,8–22,7 %. Periodicity of monitoring of raw fiber and raw protein content in diets should be higher for piglets of early age; and microelement content (calcium and phosphorus) – for single, pregnant and lactating sows.

Поступила в редакцию 29.04.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Основной проблемой обеспечения рационов свиней высокопитательными и безупречными в санитарно-гигиеническом отношении нутриентами является увеличивающийся дефицит качественных кормовых средств. В связи с ухудшением экологической ситуации в агробиоценозах, загрязненностью почвы, воды, растений токсикантами различного происхождения доля качественного фуража в кормовом балансе неуклонно сокращается. Такое положение наблюдается по всем группам кормовых средств. При переводе белорусского свиноводства на промышленную технологию (70–80-е годы) основными компонентами комбикормов для свиноматок были кукуруза, пшеница, соевый шрот, пшеничные отруби, травяная мука. В настоящее время доля этих кормовых средств в большинстве рецептов комбикормов невелика, имеет тен-

денцию к сокращению и замене на менее питательные компоненты (тритикале, рожь, рапсовый шрот, продукты микробиологического синтеза), содержащие ряд нежелательных веществ. Это прежде всего обусловлено экономическими факторами. Крупные свиноводческие комплексы, которые построены в советский период на белорусской земле, были ориентированы на зарубежные кормовые ресурсы. В Канаде и США приобреталась фуражная пшеница, в США, Бразилии и Аргентине – кукуруза и соевый шрот. Рыбная мука также в значительных объемах завозилась по импорту (Перу, Мавритания, Аргентина). Несмотря на значительную энергоемкость (на 1 кг продукта затрачивалось около 0,35 л печного топлива), белорусские хозяйства в плановом порядке производили травяную муку – ценный компонент комбикормов. После обретения независимости в Белару-

си пришлось в значительной степени изменять структуру кормопроизводства, в том числе рецепты комбикормов для свиней. В период глобального экономического кризиса эта проблема стала еще более актуальной. С целью сокращения затрат валютных ресурсов отечественные аграрники получили «социальный заказ» – в необходимых объемах производить корма на своей земле и лишь в крайнем случае, когда это обусловлено экономически, приобретать отдельные кормовые средства за рубежом.

Изменения в кормовом балансе свиноводства негативно отразились на продуктивности и физиологическом статусе животных. На наш взгляд, в сложившейся ситуации необходимо искать новые подходы к решению возникших проблем, использовать все лучшее, что есть в мировой теории и практике не только сельскохозяйственного, но и промышленного производства. Основой рациональной производственной стратегии в настоящее время являются системы качества предприятий, основанные на системе международных стандартов ИСО 9000, принципах НАССР. По нашему мнению, непосредственно для свиноводства необходима разработка несложной системы качества с меньшим объемом документации, суть и механизм действия которой были бы понятны любому работнику предприятия [9, 10]. Поскольку кормление является одной из основных составляющих технологии свиноводства, то гигиенический и зоотехнический мониторинг рационов поголовья является одним из атрибутов системы качества.

Цель исследования – провести гигиенический и зоотехнический мониторинг качества кормления свиней.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В рамках разработки методологических основ исследований в условиях промышленного животноводства в области гигиены кормления нами предложено использовать три принципа, которые сформулированы в виде постулатов:

1. Уровень и сбалансированность корм-

ления каждой половозрастной группы животных определяется величиной суточного потребления всех элементов питания согласно рациону. Таким образом, в суточной даче корма особям всех половозрастных групп (в данном случае полнорационных комбикормов) должны содержаться в необходимом количестве все эссенциальные трофические и биологически активные компоненты.

2. Периодичность контроля каждого параметра рациона зависит от распространенности его отклонений от нормативов. К примеру, если содержание цинка в рационе значительно чаще не соответствует норме, чем содержание марганца, то, согласно схеме мониторинга, чаще должны контролировать содержание цинка.

3. Поскольку выполнение контрольных мероприятий, связанных с аналитическими определениями, требует дополнительных затрат времени и средств, то для снижения себестоимости мониторинга необходимо контролировать коррелирующие параметры питательности. Так, к примеру, согласно ряду исследований известно, что содержание в кормах сырой клетчатки и энергии отрицательно коррелируют. Следовательно, при повышенном содержании клетчатки в рационе содержится меньше энергии [3, 4].

Исследования по вышеуказанной тематике проводились на двух свиноводческих комплексах мощностью 108 тысяч свиней годового выращивания и откорма (РУСП «Свинокомплекс Борисовский» Минской области и ОАО «Сож» Гомельской области).

Исследования комбикормов и печени свиней проводили в лабораториях РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству» и РУП «Институт мясо-молочной промышленности» согласно действующей нормативной документации: влага – ГОСТ 13496.3, сырая клетчатка – ГОСТ 13496.2, сырой протеин – 13496.4, кальций – ГОСТ 26570, фосфор – ГОСТ 26657, железо, медь, марганец, цинк – ГОСТ 30178, свинец – ГОСТ 26932, кадмий – ГОСТ 26933.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Первым этапом наших исследований было получение исходной информации по питательности и гигиеническому соответствию рационов всех половозрастных групп свиней. С этой целью для проведения зоотехнического, гигиенического анализа отбирались суточные рационы свиней на каждом из обследованных свиноводческих комплексов (по десять образцов каждого комбикорма). Определялись параметры питательности комбикормов согласно нормативов, регламентированных [8], а также содержание микроэлементов и токсичных элементов (железо, марганец, медь, цинк, свинец, кадмий). Особенностью, которая отличает отбор аналитических проб комбикормов для гигиенического и зоотехнического мониторинга от производственного контроля, который производится согласно ГОСТу [2], является принцип фор-

мирования объединенной пробы. Основным требованием при производственном контроле партии комбикорма является максимально точная оценка всей совокупности партии. При гигиеническом и зоотехническом мониторинге в большей степени оценивается наличие в конкретном рационе всех необходимых элементов питания. По нашему мнению этот методический подход позволяет более точно оценивать соответствие корма потребностям животных и, основываясь на полученных данных, вносить соответствующие изменения в программы кормления и технологии кормообеспечения.

В таблице 1 представлены показатели несоответствия рационов животных зоотехническим нормам (по некоторым показателям, регламентированным ТУ РБ 06093149.065-2000 и определяемым аналитическими методами).

Таблица 1. – Процент отклонений рационов свиней от зоотехнических норм

Комбикорм	Несоответствие рационов показателям качества, % (n=20)				
	влага	сырой протеин	сырая клетчатка	кальций	фосфор
СК-1	10	10	0	25	20
СК-10	25	20	5	30	20
СК-11	25	30	35	15	20
СК-16	15	20	25	20	20
СК-21	0	10	20	15	15
СК-26	10	25	30	25	15

Согласно нашим исследованиям, наиболее проблемными при балансировании рационов являются сырой протеин и сырая клетчатка. Самой неблагоприятной в этом отношении группой являются поросята ранних возрастов, потребляющие комбикорма СК-11 и СК-16, а также откормочный молодняк свиней. Достаточно большая часть рационов не соответствовала нормам по макроэлементам (кальцию и фосфору). Это, по нашему мнению, объясняется следующими причинами:

1. Включением недостаточно однородных по качественным параметрам и по-

казателям питательности компонентов (зернофуража, протеинового сырья). Так, согласно нашим исследованиям, одним из распространенных протеиновых компонентов комбикормов является мясокостная мука. Из-за невысокого качества исходного сырья основные ее объемы соответствуют третьему классу и характеризуются значительными разбежками по содержанию сырого протеина и незаменимых аминокислот, что снижает продуктивное действие вырабатываемых с ее включением комбикормов [11].

2. Погрешностями при дозировании

и смешивании компонентов при выработке комбикормов. Согласно действующей нормативной документации коэффициент однородности при выработке комбикормов не должен быть ниже 75 % [6]. Однако, согласно научным исследованиям, этот показатель для обеспечения высокого продуктивного действия комбикормов недостаточен. По нормативам США нижняя граница однородности смеси для поросят не должна быть ниже 95 %, а для свиней старших возрастов – 90 % [5].

3. Влиянием процессов самосортировки компонентов по плотности и другим физическим параметрам при транспортировке и хранении комбикормов. В погоне за снижением себестоимости продукции производители нередко пренебрегают таким эффективным приемом обеспечения гомогенности комбикормов, как гранулирование (особенно для холостых и супоросных свиноматок), что ведет к самым негативным последствиям.

Использование зернового сырья согласно классам действующих государственных стандартов, широкое применение гранулирования для всех без исключения комбикормов, выпускаемых для промышленного свиноводства, способны улучшить их сбалансированность.

Необходимо отметить более широкое значение выявленных нами форм несбалансированности суточных рационов свиней. Для максимального использования всех элементов питания необходимо, чтобы составляющие рациона находились в определенном взаимном соответствии, чтобы использование всех нутриентов в процессах анаболизма и катаболизма было физиологически оптимальным. В противном случае коэффициент эффективности использования кормов животными будет неудовлетворительным. При недостатке (или значительном избытке) сырого протеина в рационе использование органического вещества кормов ухудшается. Это связано с дополнительными потерями в ходе белкового обмена (дезаминированием аминокислот, выведением лишних источников азота из организма). Подобное взаимодействие наблю-

дается относительно всех факторов питания, в том числе и энергии, что объясняется законом минимума, установленным немецким ученым Ю. Либихом.

Помимо снижения продуктивности, в промышленном свиноводстве достаточно широко распространены обменные нарушения. Согласно нашим исследованиям, до 40–60 % образцов крови, взятых от животных контрольных групп, не соответствовали нормативам по общему белку, 20–60 % – по общему кальцию и неорганическому фосфору, до 20 % – по резервной щелочности [12].

В кормлении свиней в условиях промышленной технологии, когда ставится задача добиться максимально возможной продуктивности, обусловленной генетическим потенциалом, нет второстепенных факторов. Если при средней продуктивности животных в определенной степени возможно самобалансирование (особенно если комбикорм состоит из смеси многих кормовых средств), то при максимальной продуктивности необходима регулярная доставка с кормом в организм всех необходимых элементов питания. Одним из важнейших факторов для поддержания метаболизма на необходимом уровне является надлежащее снабжение организма микроэлементами. Это группа минеральных веществ, присутствующая в организме в едва заметных количествах, но играющая весьма важную физиологическую роль. Подобно витаминам, микроэлементы могут входить в соединения с белками, образуя специфические ферменты. Также они служат составной частью отдельных гормонов, выполняющих ряд регуляторных функций организма. В своих исследованиях мы определяли концентрацию в рационах свиней четырех микроэлементов (железо, марганец, цинк, медь) и двух тяжелых металлов (кадмий, свинец). Содержание железа и марганца было достаточно стабильным, а цинка и меди – более варибельным. В таблице 2 приведены значения содержания микроэлементов в рационах супоросных и подсосных свиноматок (комбикорма СК-1 и СК-10).

Таблица 2. – Содержание микроэлементов в комбикормах СК-1 и СК-10

Микроэлемент	Среднее содержание, мг/кг	Лимиты, мг/кг	Коэффициент вариации, %
Комбикорм СК-1 (n=20)			
Железо	192,3±5,09	166,4–204,2	5,9
Марганец	88,7±5,14	74,6–102,1	13,2
Цинк	152,3±17,51	80,5–158,8	30,3
Медь	27,5±4,12	20,3–37,2	18,4
Комбикорм СК-10 (n=20)			
Железо	197,2±6,24	169,2–217,4	7,1
Марганец	94,1±6,38	78,2–105,5	14,9
Цинк	117,5±15,65	74,2–132,1	27,1
Медь	29,3±5,84	22,4–41,3	22,7

Так, в комбикорме для холостых и супоросных свиноматок концентрация цинка изменялась от 80,5 до 158,8 мг/кг, а меди – от 20,3 до 37,2 мг/кг. Примерно такая же закономерность распределения этих минералов отмечалась в рационах подсосных свиноматок. Согласно нормам, концентрация цинка и меди в 1 кг комбикорма должна быть: для холостых и супоросных свиноматок – не ниже 15 и 80 мг, подсосных свиноматок – не ниже 20 и 90 мг. При обогащении рационов микроэлементами необходимо учитывать предельно допустимые концентрации минералов [1]. Однако химический состав кормовых ресурсов под влиянием различных факторов также меняется.

В нашей работе наряду с биохимическими исследованиями крови определялся микроэлементный состав печени. Установлено, что в подавляющем числе образцов содержание меди более чем в два раза уступало нормативу. Следовательно, в рационе содержатся определенные вещества, препятствующие поступлению меди в организм. Согласно данным ряда источников научной литературы, антагонистом меди в организме является кадмий [7]. При анализе рационов по кадмию установлено, что содержание этого тяжелого металла в трети исследованных образцов кормов было близко к предельно допустимым концен-

трациям (70–90 % от ПДК). Схожая ситуация и по другому тяжелому металлу – свинцу. Следовательно, необходимо обязательно проводить мониторинг рационов свиноматок на содержание меди и тяжелых металлов (кадмия, свинца), чтобы оперативно вносить соответствующие изменения в сами рационы и в систему кормообеспечения поголовья.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Наиболее проблемными нутриентами при балансировании рационов свиней являются сырая клетчатка и сырой протеин. 25 % рационов поросят-отъемышей и 35 % рационов поросят на дорастивании не соответствовало нормам по сырой клетчатке, 20 % и 25 % – по сырому протеину.

2. В рационах свиней различных половозрастных групп концентрация микроэлементов цинка и меди является наиболее вариабельной. Коэффициент вариации цинка – от 17,1 до 30,3 %, а меди – от 14,8 до 22,7 %.

3. Периодичность контроля содержания сырого протеина и сырой клетчатки в рационе должна быть выше у поросят ранних возрастов, а макроэлементов (кальций и фосфор) – у холостых, супоросных и подсосных свиноматок.

ЛИТЕРАТУРА

1. Показатели безопасности кормов: ветеринарно-санитарный норматив // Постановление МСХиП РБ № 48 от 28.04.2008 г.
2. Комбикорма, сырье. Методы отбора проб: ГОСТ 13496.0-80.
3. Кошелев, А.Н. Производство комбикормов и кормовых смесей / А.Н. Кошелев, Л.А. Глебов. – М.: Агропромиздат, 1986. – 176 с.
4. Кремптон, Э.У. Практика кормления сельскохозяйственных животных / Э.У. Кремптон, Л.З. Харрис. – М.: Колос, 1972. – 372 с.
5. Крюков, В. Контроль однородности комбикормов / В. Крюков // Комбикорма. – 2005. – № 7. – С. 30–31.
6. Правила организации и ведения технологических процессов производства продукции комбикормовой промышленности: РД РБ 02150.019-2004.
7. Таланов, Г.А. Санитария кормов: справочник / Г.А. Таланов, Б.Н. Хмелевский – М.: Агропромиздат, 1991. – 303 с.
8. Комбикорма полнорационные для свиней: ТУ РБ 06093149.065-2000.
9. Хоченков, А.А. Система управления качеством продукции животноводческой фермы / А.А. Хоченков // Зоотехния. – 2001. – № 4. – С. 27–30.
10. Хоченков, А.А. Система качества в животноводстве и ее основные элементы / А.А. Хоченков // Новости. Стандартизация и сертификация. – 2001. – № 3. – С. 35–38.
11. Качество компонентов животного происхождения комбикормов для контрольного откорма свиней / И.П. Шейко [и др.] // Доклады НАН Беларуси. – 2008. – Т. 52. – № 3. – С. 108–112.
12. Особенности обмена веществ в организме ремонтных свинок на промышленных комплексах и возможности его коррекции / И.П. Шейко [и др.] / Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. аграрн. навук. – 2007. – № 2. – С. 70–75.

ПРЕПАРАТ ВЕТЕРИНАРНЫЙ **кальцемагфосвит**

Содержит кальций, магний и вспомогательные вещества: бутафосфан, глюкозу, кислоту аскорбиновую, кислоту борную, тетраборат натрия, калия гидроокись и натрия гидроокись

Повышает в крови уровень ионов кальция и магния, оказывает десенсибилизирующее, и противовоспалительное действие

Применяют в качестве лечебно-профилактического средства крупному рогатому скоту при родильном парезе, послеродовом залеживании, задержании последа, нарушениях минерального обмена (гипокальцемия, кетоз, остеомаляция, тетания, рахит), а также как антитоксическое и антиаллергическое средство. Эффективен в комплексной терапии животных с воспалительными и экссудативными процессами

Стимулирует обмен веществ, регулирует сокращение сердечной мышцы, водно-солевой и кислотно-щелочной обмен

НОВИНКА



УДК 619:616.995.1(636.7)

Мясцова Т.Я., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Якубовский М.В., доктор ветеринарных наук, профессор¹
Голынец В.Г., кандидат ветеринарных наук, доцент, главный ветеринарный врач²

¹ РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», г. Минск

² Государственный пограничный комитет Республики Беларусь, г. Минск

ДИРОФИЛЯРИОЗ СОБАК В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ СООБЩЕНИЕ 2

Резюме

Усовершенствован прямой метод лаваскопии микрофилярий дирофилярий крови, гемолизированной теплой водой. При данном методе исследования крови на наличие микрофилярий не требуется специального оборудования и реактивов, а время исследования одной пробы сокращается в 3–4 раза. Следовательно, такой метод можно отнести к экспресс-методам. Одновременно можно определить и интенсивность инвазии микрофиляриями.

Ветеринарный препарат «Полипарацид» рекомендован для лечения и профилактики дирофиляриоза. В связи с отсутствием микрофилярий в крови собак по истечении 3 месяцев после лечения можно предположить, что препарат обладает не только микрофилярицидным действием, но и оказывает губительное влияние на имагинальные формы дирофилярий.

Summary

The direct method of lavascope microfilariae of dirofilaria emulsionnoj blood warm water has been improved. In this method of blood examination on microfilaraemia does not require special equipment and reagents, and the time of the study one sample is reduced to 3–4 times. Therefore, this method can be attributed to the Express method. At the same time one can determine the intensity of infestation by microdistilleries.

Veterinary drug «Polyparacid» recommended for treatment and prevention. In connection with absence of microfilariae in the blood of dogs after 3 months after treatment, we can assume that polymerized has not only microfilaricidal action, but has a detrimental effect on the imaginal form of dirofilaria.

Поступила в редакцию 23.09.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

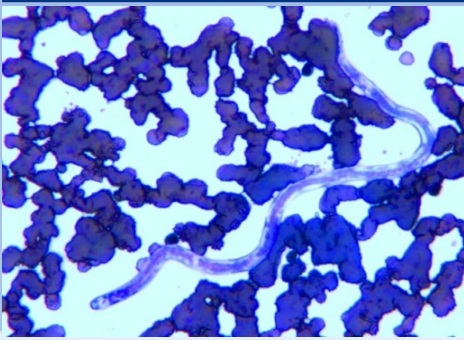
Дирофиляриоз является зоонозом. Заражение человека происходит трансмиссивным путем через укусы кровососущих комаров рода *Aedes*, *Culex* и *Anopheles*. Источником инвазии для заражения комаров являются инвазированные домашние собаки, а также кошки, реже – дикие плотоядные (волки, лисицы и другие животные). В условиях городской квартиры передача инвазии при наличии большой собаки или кошки может осуществляться круглогодично «подвальными» комарами рода *Culex* (*C.p. molestus*). В весенне-летний период значительно увеличивается риск заражения людей дирофиляриями.

Диагностика дирофиляриоза. Для подтверждения диагноза на дирофиляриоз

проводится прижизненная диагностика, основанная на выявлении микрофилярий дирофилярий в периферической крови собак, кошек и др. животных.

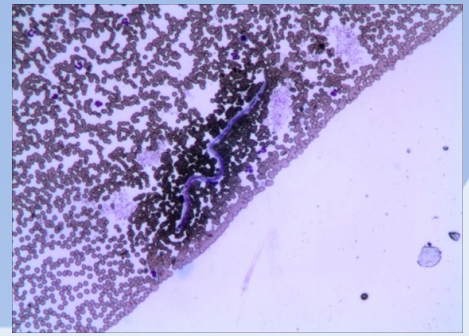
В настоящее время в ветеринарных клиниках дирофиляриоз диагностируют случайно. При выведении лейкоцитарной формулы в мазке крови обнаруживают личинок дирофилярий, применяя метод тонкого фиксированного мазка крови, окрашенного по Романовскому-Гимза. Этот метод информативен тогда, когда наблюдается высокая интенсивность инвазии. При низкой интенсивности инвазии вероятность обнаружения личинок очень мала.

Учет результатов: видны неподвижные окрашенные микрофилярии (рисунки 1).



Увеличение 10×90

Рисунок 1. –
Микрофилярии
в мазке крови



Увеличение 10×20

Для выявления микрофилярий дирофилярий в крови широко используют модифицированный метод Кнотта [7].

Нами усовершенствован прямой метод ларвоскопии микрофилярий крови, гемолизированной теплой водой.

На протяжении всего года в течение дня у собак берут кровь из вены (0,5–1 мл) и стабилизируют 5%-ным водным раствором цитрата натрия. На стеклянной пластинке размером 9×12 см или другого размера стеклоглафом (восковым карандашом) ограничивают поле размером приблизительно 9×7 см для того, чтобы не растекалась исследуемая жидкость.

В центр поля помещают 1000 мкл теплой водопроводной воды (без хлорки) и добавляют стабилизированную кровь в количестве 200 мкл (максимально комфортные условия микроскопирования), перемешивают, жидкость распределяют тонким

слоем по всему ограниченному полю. После гемолиза эритроцитов (через 10–20 с) проводят микроскопирование всего поля, методично, от края до края, смещая на поле зрения микроскопа, т.е. змейкой, при увеличении микроскопа 10×10.

Поле зрения микроскопа наводят по лейкоцитам крови (светящиеся сферы) и оболочкам эритроцитов. При отрицательном результате исследуют до 1000 мкл крови. Покровные стекла не требуются.

Обязательное условие микроскопирования – диафрагма конденсора должна быть полностью закрыта, поверхность предметного столика микроскопа установлена максимально горизонтально. Освещение поля зрения микроскопа не должно быть ярким.

Учет результатов: микрофилярии видны в нативном виде – живые со змееобразными движениями (рисунки 2, 3).



Рисунок 2. – Микрофилярии дирофилярий в гемолизированной крови. Округлые сферы – лейкоциты (увеличение 10×10)



Рисунок 3. – Микрофилярии в гемолизированной крови собак (увеличение 10×20)



Одновременно можно проводить количественный подсчет микрофилярий, т.к. взят определенный объем крови [1]. При высокой интенсивности инвазии подсчет

$$\text{Кол-во личинок в 1 мл крови} = \frac{\text{кол-во подсчитанных личинок} \times 1000 \text{ мкл}}{\text{объем взятой для исследования крови, мкл}}$$

Этот метод позволяет находить даже 1 личинку в 1 мл крови.

Модифицированный метод Кнотта [7]. Эффективность выявления микрофилярий дирофилярий составляет 85–95 %. Метод заключается в том, что к 1 мл венозной крови добавляют 10 мл 2%-ного раствора формалина. Смесь хорошо перемешивают и центрифугируют при 1500 об/мин в течение 5 мин. Надосадочную жидкость удаляют, а осадок смешивают с равным объемом метиленового синего в разведении 1:1000 и оставляют для окрашивания на 5 мин. Окрашенный осадок микроскопируют при увеличении 10×10 или 10×20.

Учет результатов: видны неподвижные микрофилярии (рисунок 4).

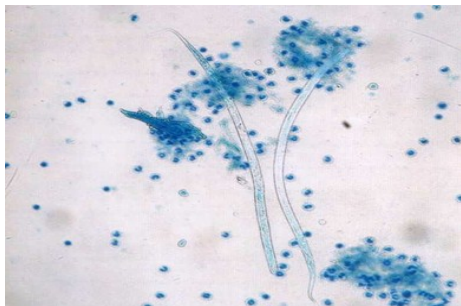


Рисунок 4. – Микрофилярии, окрашенные по методу Кнотта

Метод центрифугирования крови с дистиллированной водой (Ястреб В.Б., 2005) [6]. 1 мл стабилизированной крови тщательно перемешивают с 9 мл дистиллированной воды, отстаивают 5 минут и центрифугируют при 2000 об/мин в течение 5 минут. Надосадочную жидкость удаляют, оставляя 1 мл жидкости с осадком. Осадок ресуспендируют и порционно переносят на предметное стекло, накрывают покровным стеклом и микроскопируют при увеличении 10×10.

количества микрофилярий можно провести в 50–100 мкл крови и пересчитать их содержание в 1 мл крови по формуле

Учет результатов: видны живые подвижные личинки.

В сравнительном аспекте выявления микрофилярий в крови нами были испытаны следующие методы: модифицированный метод Кнотта с формалином, метод Ястреба с дистиллированной водой, тонкого мазка крови с окраской по Романовскому-Гимза и наш прямой метод ларвоскопии микрофилярий крови, гемолизированной теплой водой (таблица).

Таким образом, при нашем методе исследования крови на микрофиляриемии не требуется специального оборудования и реактивов, а время исследования одной пробы сокращается в 3–4 раза. Следовательно, такой метод можно назвать экспресс-методом. Одновременно можно определить и интенсивность инвазии микрофиляриями.

Однако отсутствие микрофилярий в крови не может быть показателем отсутствия инвазии. Приблизительно в 25–30 % случаев дирофиляриоза наблюдается амикрофиляриемическая форма инвазии, т.е. без циркулирующих в крови микрофилярий. «Латентная» инвазия может быть связана с препатентной стадией паразита, гельминтами одного пола, крайне низкой микрофиляриемией, проводимой микрофилярицидной терапией и др. причинами. Для выявления такой формы дирофиляриоза применяют непрямую иммунофлуоресценцию ИФА и ПЦР. Следует учитывать, что после успешной терапии дирофиляриоза животные дают положительный результат в ИФА в течение 1 года.

Н.В. Серебрякова установила, что при бессимптомном, легком течении дирофиляриоза более чем у половины собак на электрокардиограмме встречается пред-

сердная диссоциация, экстрасистолия и частичная блокада ножек пучка Гиса, преимущественно правосторонняя, что неха-

рактерно для патологии сердца другой этиологии и может носить диагностический характер [5].

Таблица. – Сравнительные данные по эффективности методов по выявлению микрофилярий в крови с максимальным и минимальным содержанием личинок, max/min

Метод	Исходное количество, лич./мл крови, max/min	Обнаружено личинок, max/min.	Необходимое оборудование и реактивы	Время на проведение одного анализа, мин
Модифицированный метод Кнотта с формалином	8790/75	7581/62, личинки мертвые	центрифуга, вытяжной шкаф, микроскоп, пробирки, предметные и покровные стекла, формалин, краска Романовского-Гимза, дозаторы	40–45
Метод Ястреба В.Б. с дистиллированной водой	8790/75	7682/63, личинки живые	центрифуга, микроскоп, пробирки, предметные и покровные стекла, дозаторы, дистиллированная вода	40–45
Тонкий мазок крови	8790/75	2/0, личинки мертвые	микроскоп, предметные стекла фиксатор, краска Романовского-Гимза	до 40
Прямой метод ларвоскопии микрофилярий крови, гемолизированной теплой водой	8790/75	8695/74, личинки живые	микроскоп, стекла размером 9×12 см или другого размера, теплая обычная вода, дозаторы	6–10 мин в зависимости от навыков

При ультразвуковом исследовании взрослых гельминтов можно обнаружить в полости сердца.

Однако ни один из этих методов не может исключать дирофиляриоз окончательно из-за распространенности амикрофиляриемической формы болезни и при небольшом количестве циркулирующих в крови личинок.

ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ

Терапия дирофиляриоза у собак. По данным литературных источников, лечение у собак дирофиляриоза, вызванного *Dirofilaria immitis*, является трудным и долгим. Оно сопряжено с развитием эмболии сосудов фрагментами распадающихся гельминтов, особенно при высокой интенсивности инвазии, запуском иммунологических реакций с формированием комплексов «антиген-антитело», обладающих выраженны-

ми гистотоксическими свойствами, возникновением септических состояний и, как следствие, полиорганной недостаточности и гибелью животного [2].

При макрофилярицидной терапии всегда следует учитывать опасность для жизни животного в начале лечения, т.е. смерть животного при лечении может наступить быстрее, чем без лечения, так как применение специфических препаратов провоцирует активное поступление взрослых дирофилярий и их фрагментов в сосудистое русло и, как следствие, эмболию сосудов.

Для лечения микрофиляриемии у собак мы применили ветеринарный препарат «Полипарацид», разработанный в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» и одобренный Ветбиофармсоветом МСХП РБ, протокол № 70 от 24 декабря 2013 г. В 1 г препарата содержится 80 мг фенбендазола,

25 мг левамизола гидрохлорида, 2 мг ивермектина, 10 мг токоферола ацетата и лактоза до 1,0 г.

Среднесмертельная доза LD₅₀ полипарацита для белых мышей при однократном внутрижелудочном введении составляет 11285,8 мг/кг.

Препарат малотоксичный для теплокровных животных, в дозе, превышающей терапевтическую в три раза, не оказывает эмбриотоксического, тератогенного, сенсibiliзирующего и мутагенного действия.

Служебным собакам, инвазированным дирофиляриями с интенсивностью 3067±1133 лич./мл крови, применили полипарацитид в дозе 75 и 50 мг/кг массы тела 1 раз в день в течение 3 дней. Препарат задавали с кормом. Через 14 дней курс лечения повторили в той же дозе и кратности.

Собаки во время лечения и в течение месяца после его окончания были освобождены от физических нагрузок. Осложнений и отклонений в клиническом состоянии собак после курса лечения отмечено не было.

Контроль эффективности лечения показал, что через 3 месяца после лечения в крови собак микрофилярии дирофилярий не обнаружены, т.е. эффективность составила 100 %.

Таким образом, в связи с отсутствием микрофилярий в крови собак по истечении 3 месяцев после лечения, можно предположить, что полипарацитид обладает не только микрофилярицидным действием, но и оказывает губительное влияние на имагинальные формы дирофилярий.

Профилактика заболевания заключается в борьбе с нападением комаров на собак с применением препаратов с репеллентными и инсектицидными свойствами длительного действия в форме спрея, пудры, эмульсии.

Для профилактики заражения собак дирофиляриями применяют микрофилярицидные препараты, такие как диронет, полипарацитид, ивермектин, моксидексин, левамизол гидрохлорид, адвокат и др. согласно инструкции по применению. Их начинают применять за месяц до начала лета комаров, ежемесячно в период лета и месяца после его окончания [3, 4].

Прогноз при заражении собак *Dirofilaria repens* почти всегда благоприятный. При заражении *Dirofilaria immitis* в начальной стадии заболевания и средней степени тяжести прогноз относительно благоприятный (осторожный), а при тяжелой форме – чаще всего неблагоприятный.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипова, Д.Р. Количественный метод диагностики дирофиляриоза собак / Д.Р. Архипова, И.А. Архипов: тр. Всерос. ин-та гельминтологии им. К.И. Скрябина. – М., 2004. – Т. 40. – С. 18–22.
2. Беспалова, Н.С. Сравнительная характеристика микрофилярицидных свойств препаратов на основе моксидектина и эприномектина при дирофиляриозе собак / Н.С. Беспалова, Т.А. Золотых // Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии: материалы V Междунар. съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов. – Витебск, 2015. – С. 86–88.
3. Веденеев, С.А. Новые подходы к проблемам лечения и профилактики дирофиляриоза собак / С.А. Веденеев, В.Н. Ямицкий. – С. 182–186.
4. Диагностика и лечебно-профилактические мероприятия при дирофиляриозах плотоядных животных: метод. рекомендации. – М.: ФГОУ ВПО МГАВМиБ, – 2007. 22 с.
5. Серебрякова, Н.В. Научное обоснование комплекса мероприятий при дирофиляриозе служебных собак: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук / Н.В. Серебрякова. – Новочеркасск, 2009.
6. Ястреб, В.Б. Сравнительное изучение методов обнаружения микрофилярий в крови собак / В.Б. Ястреб: материалы. докл. науч. конф. – М., 2005. – Вып. 5. – С. 443–445.
7. Knott, J.I. Method for making microfilarial surveys on day blood / J.I. Knott // Trans. R.Soc. Trop. Med. Hyg. – 1939. – V. 33. – P. 191–196.

УДК: 619:616.98-078:57.083.1:579.873.21:636.22/.28

Завгородний А.И., доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент НААН Украины

Позмогова С.А., кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник

Калашник Н.В., кандидат ветеринарных наук

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков

ИЗУЧЕНИЕ РОСТОВОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬТУР *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSPECIES *PARATUBERCULOSIS*, ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ КОРОВ С ЛАТЕНТНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ ФОРМАМИ ПАРАТУБЕРКУЛЕЗА

Резюме

*В статье приведены результаты бактериологического исследования проб тонкого отдела кишечника от крупного рогатого скота с клинической (n=1) и субклинической (n=2) формами паратуберкулеза, из которых были изолированы *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (MAP). Установлено, что совокупность клинических признаков, патологоанатомических поражений и положительная бактериоскопия мазков-отпечатков предполагает высокую биологическую активность MAP *in vivo* и *in vitro*, отражающуюся в способности к достаточно быстрой репликации бактериальных клеток и интенсивному росту на питательных средах. При латентной форме паратуберкулеза отмечается низкая микробиологическая активность MAP к репликации и адаптации к питательной среде, обусловленная покоящимися измененными формами. Для реверсии и восстановления ростовой активности культур MAP необходимы многократные пересевы на селективных питательных средах. R-субкультура MAP характеризуется большей ростовой активностью по сравнению с культурой в S-форме.*

Summary

*Article presents results of bacteriological study of intestine samples collected from cattle which have clinical and subclinical form of Johne's disease. *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* (MAP) cultures were isolated from collected biomaterial samples. It was established that clinical signs and anatomopathological lesions were characteristic for Johne's disease. Positive bacterioscopic examination of smears from internal organs shows high contagious activity of MAP cultures *in vivo* and *in vitro*. MAP isolates have ability to high speed replication of bacterial cells and intensive growth on nutrient media. In case of latent MAP infection bacterial cells have low level of microbiological activity and slow adaptation ability to growth on selective nutrient media. Cell wall deficient forms cause low microbiological activity of MAP to replication and adaptation to the nutrient medium in the latent form of paratuberculosis disease. It is necessary to conduct multiple reinoculations of MAP cultures on selective nutrient media for reversion and recovery of their activity.*

Поступила в редакцию 22.10.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Паратуберкулез (РТВ, болезнь Йоне) – микобактериальная (*M. avium* subsp. *paratuberculosis*, MAP) хроническая инфекция домашних и диких жвачных животных, имеющая место более чем в 70,0 % европейских стад молочного направления [1] и приводящая к значительным экономическим потерям [2]. По состоянию на 2019 г. Украина считается благополучной по паратуберкулезу, однако спорадически больные животные выявляются. В 2015, 2017 и 2019 гг. в лабо-

ратории изучения туберкулеза ННЦ «ИЭКВМ» из лимфатических узлов коров были изолированы 5 культур MAP (Хмельницкая и Харьковская обл.). В 2019 г. при серологическом исследовании 6150 проб крови в 17 образцах (Волинская (n=1), Черниговская (n=3), Хмельницкая (n=2), Ровненская (n=1), Черкасская (n=1), Донецкая (n=8) области) были выявлены специфичные к MAP антитела в реакции связывания комплемента.

Различают латентную (бессимптом-

ную, субклиническую) и клиническую стадии болезни. Диагностика паратуберкулеза не представляет особых трудностей, если заболевание подтверждается клиническими признаками (диарея, истощение), результатами микроскопических и патологоанатомических исследований [3]. Клиническая форма РТВ представляет более патологическую и активную форму проявления инфекции и характеризуется мультифокальными и диффузными типами поражений, которые коррелируют с высокими показателями серопозитивности и обнаружения микобактерий [3, 4, 5, 6]. Самая сложная и актуальная проблема в борьбе с паратуберкулезом – выявление животных с субклинической стадией болезни, соотношение которых в стаде к числу животных с клиническим РТВ согласно «айсберг-эффекту» составляет 6:1 [4, 7, 8]. У большинства инфицированного крупного рогатого скота клинические признаки болезни не развиваются, и выявить таких животных с помощью имеющихся диагностических тестов крайне сложно. Для латентного РТВ характерны очаговые (фокусные) гранулематозные поражения, ассоциируемые с ограниченными, а в большинстве случаев отсутствующими гуморальными реакциями и низким коэффициентом обнаружения *MAR* [9, 10].

Довольно часто для установления окончательного диагноза требуется изоляция возбудителя [3]. Культуральное исследование фекалий или тканей на наличие *MAR* с использованием питательных сред с обязательным добавлением фактора роста (бактериальной массы *M. phlei* или ее производной – микобактина) считается «золотым стандартом» при диагностике РТВ. Однако выделение культуры *MAR* из патологического материала сопряжено с определенными трудностями, связанными с генетическими и фенотипическими особенностями возбудителя. Основные из них – микобактин-зависимость, медленный рост и способность к *L*-конверсии. Считается, что *CWD*-формы (от англ. *cell wall deficient*) являются причиной латентной персистирующей инфекции [11, 12, 13, 14]. Персистенция формируется до развития активной формы болезни под давлением иммунного

ответа хоста и характеризует начальную стадию латентной инфекции. Персистентная инфекция предполагает динамичную и гетерогенную бактериальную популяцию, состоящую из культивируемых и некультивируемых персистирующих бактериальных клеток, отличающихся различным ростом и метаболическим состоянием.

Низкий коэффициент выявляемых *in vivo* культур *MAR* при латентной инфекции в большей степени обусловлен трудностями окраски измененных форм, клеточная стенка которых утратила кислотоустойчивость, чем отсутствием патогена в макрофагальных клетках [7, 15, 16]. Измененные формы *MAR* чрезвычайно сложно выделить *in vivo* и в большинстве случаев при культивировании *in vitro* вернуть к bacillary форме. По мнению ряда авторов, это может быть связано с неактивным «дремлющим» состоянием, при котором большая часть популяции жизнеспособных клеток теряет способность к реверсии, репликации и росту *in vitro* и становится некультурабельной [11, 12, 13, 14].

Цель работы – изучить и сравнить потенциал ростовой активности изолированных от крупного рогатого скота культур *MAR* в зависимости от стадии патологического процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Бактериологическим методом исследованы пробы тонкого отдела кишечника (участки подвздошной кишки) от трех коров из благополучного по паратуберкулезу хозяйства Хмельницкой области.

Предпосевная обработка тканей. Пробы кишечника промывали дистиллированной водой, измельчали ножницами, а затем гомогенизировали, растирая стерильным песком. В гомогенат вносили небольшое количество стерильного физиологического раствора *NaCl*, перемешивали. После осаждения крупных частиц и песка стерильной пипеткой отбирали 5,0 см³ надосадочной жидкости и осторожно вносили на дно флакона с 25,0 см³ стерильного 0,9%-ного раствора *N*-цетилпиридиния хлорида, флакон закрывали и оставляли на 18 часов

при комнатной температуре.

Посев на питательные среды. После деконтаминации биологического материала со дна флакона осторожно, не касаясь стенок, отбирали осадок суспензии обработанных проб и высевали по 0,5 см³ на разработанную в лаборатории туберкулеза ННЦ «ИЭКВМ» питательную среду с фактором роста (спиртовой экстракт *M. phlei*) и контрольную сухую питательную среду для культивирования микобактерий без фактора роста.

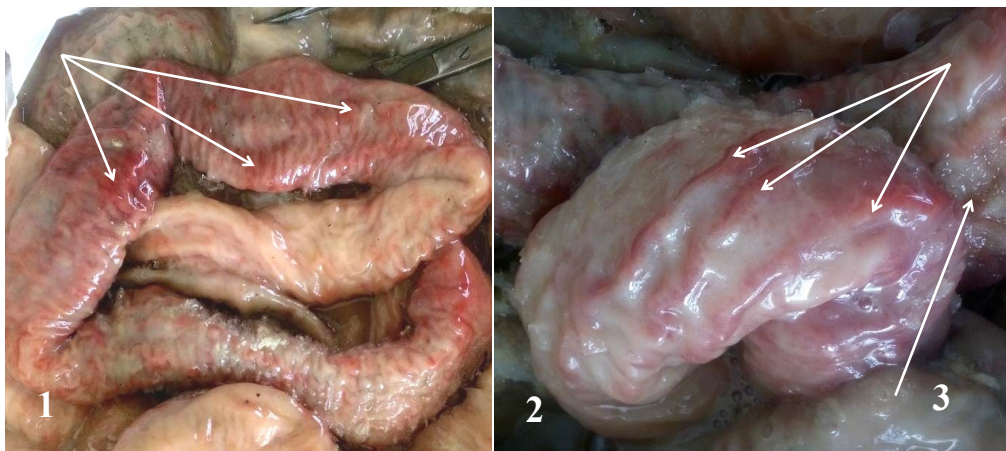
Приготовление питательной среды для культивирования *MAR* с фактором роста. На жидкую среду Сотона высевали *M. phlei* и культивировали в течение 30 дней. По истечении срока инкубации и при наличии толстой поверхностной пленки бутылки с культурой автоклавировали при режиме 120 °С 60 минут. Инактивированную остывшую бактериальную массу отделяли от культуральной жидкости фильтрованием через бумажный фильтр, затем распределяли тонким слоем на пергаменте и высушивали в термостате при 45 °С. Сухую бактериальную массу соскребали с пергамента скальпелем и растирали в ступке, затем 2–3 раза экстрагировали в сушильном шкафу при (97,0±1,0) °С в этиловом спирте (из расчета 2,0 г бакмассы на 10,0 см³ спирта), каждый раз добавляя спирт после отбора порции экстракта. Собранные порции экстракта фильтровали и использовали в качестве фактора роста при приготовлении

среды для культивирования *MAR*, добавляя 2,0 см³ на 100,0 см³ яичной среды.

Критериями ростовой активности *MAR* были скорость появления первичных колоний, интенсивность роста, количество пассажей для получения удовлетворительного роста. Тинкториальные свойства и морфологию изолированных культур микроорганизмов изучали в мазках, окрашенных по методу Циль-Нильсена.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При клиническом исследовании у коровы № 1 были выявлены признаки, характерные для РТВ: диарея, потеря мышечной массы при наличии нормального аппетита и температуры. У коров № 2 и № 3 признаки болезни не регистрировали, но они реагировали в симультанной пробе на туберкулин для птицы и аллерген из атипичных микобактерий (ААМ). При осмотре подвздошной кишки от коровы № 1 на участке длиной до 20 см наблюдали характерные для РТВ макроскопические патологические изменения. При этом отмечали значительное утолщение и складчатость слизистой оболочки пораженного участка, напоминающую каракулевый мех, которая при разглаживании не исчезала. Вдоль увеличенных сосудов кишечной стенки имелись точечные и полосчатые кровоизлияния. На поверхности слизистой оболочки присутствовал сероватый налет густой вязкой слизи с пузырьками газа (рисунок 1).



1 – складчатость слизистой оболочки; 2 – кровоизлияния;
3 – слизь с пузырьками газа

Рисунок 1. – Участки кишки с характерными для паратуберкулеза поражениями

При микроскопии мазков-отпечатков со слизистой оболочки кишки выявляли большое количество мелких кислотоустойчивых палочек (КУП) и кокков (КУК), собранных в скопления (рисунок 2). Также отмечали внутриклеточное расположение КУК в макрофагах, в результате чего они окрашивались в красный цвет.

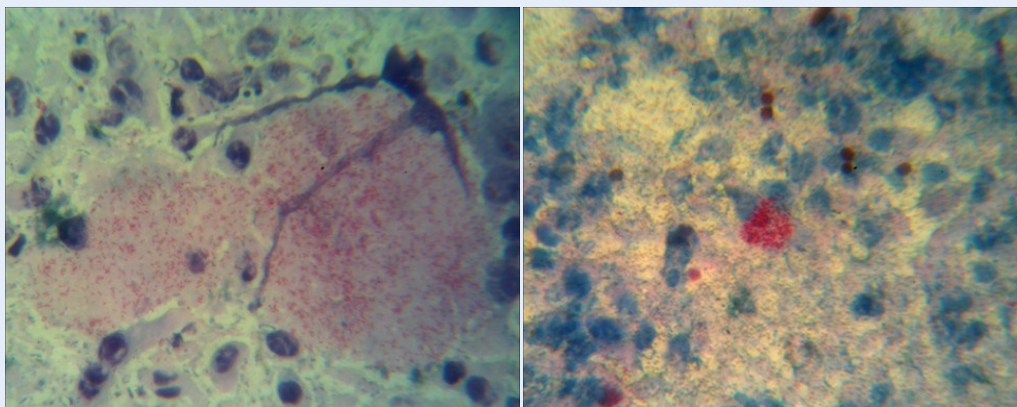


Рисунок 2. – Мазки-отпечатки слизистой оболочки кишечника коровы № 1

На основании наличия характерных патогномических поражений тканей кишечника, а также результатов бактериологического исследования (очень медленный рост, микобактин-зависимость, характерное для *MAR* расположение в виде скопления клеток) выделенная от коровы № 1 культура микобактерий была идентифицирована как *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (*MAR-1*).

При дальнейших пассажах колонии *MAR-1* приобрели кремовый оттенок и шероховатую (*R*-форма), схожую с цветной капустой поверхность. Нами было отмечено, что как только *S*-колонии приобретали *R*-форму, скорость репликации клеток, а следовательно, и скорость роста колоний значительно увеличивались. И наоборот, при трансформации *R*-колоний в *S*-форму (в случае культивирования на средах без микобактина или при пересевах культур в стационарной фазе роста) происходило резкое снижение скорости роста. Кроме того, установлено, что смена формы колоний отражалась и на адгезивных свойствах культуры. Так, культура в *S*-форме имела вязкую консистенцию, сильно прилипала к бактериологической петле и не образовыва-

При культуральном исследовании посевов биоматериала от коровы № 1 через 2,5–3 месяца культивирования на среде с фактором роста отмечали рост мелких (до 1,0 мм), прозрачных, гладких, округлых единичных колоний (*S*-форма). На контрольной среде (без фактора роста) роста колоний не наблюдали.

ла поверхностной пленки, тогда как вариант в *R*-форме легко расплывался по поверхности жидкой среды и хорошо эмульгировался в физиологическом растворе. Известно, что при адаптации микобактерий к определенным условиям содержание миколовых кислот на поверхности клеток может варьировать, тем самым изменяя толщину и проницаемость микобактериальной мембраны, что отражается на увеличении или уменьшении гидрофобности. По нашему мнению, благоприятные в данном случае условия культивирования привели к увеличению проницаемости клеточной стенки, следовательно, и к увеличению уровня поступления питательных веществ в клетку, что отразилось на скорости и интенсивности роста. Так, субкультуры третьей генерации в *R*-форме на яичной среде с фактором роста росли в два раза быстрее и интенсивнее, и к 60-му дню размер отдельных колоний увеличивался до 2–4 мм (рисунок 3).

Кроме того, после третьего пассажа на яичных средах *R*-субкультуры приобретали способность к росту на картофельной среде Павловского (рисунок 4) и жидкой синтетической среде (без фактора роста).



Рисунок 3. – Рост колоний *MAR* на селективной яичной питательной среде

Первичный рост колоний в первом пассаже на среде Павловского отмечали на 50–60 день. На синтетической среде *R*-суб-



Рисунок 4. –Рост колоний *MAR* на среде Павловского

культура на 45-е сутки занимала 1/3 по поверхности (рисунок 5), на 90-й день – всю поверхность среды.

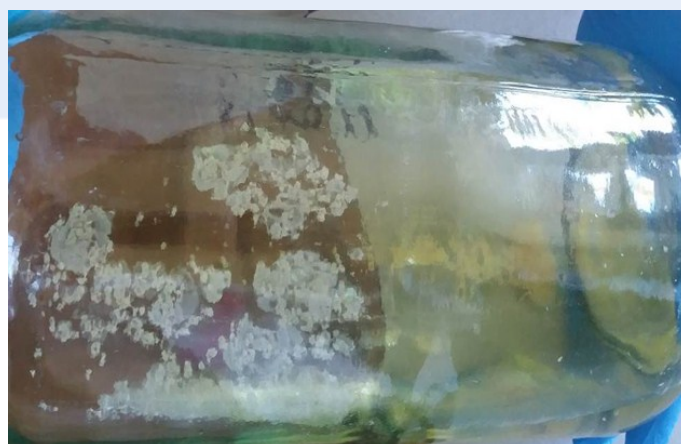


Рисунок 5. – Рост пленки *MAR*-1 на синтетической среде (45 дней)

Исходя из полученных результатов, можно предположить, что наличие клинических признаков патологоанатомических поражений и положительная бактериоскопия мазков-отпечатков коррелирует не только с высокой активностью *MAR in vivo*, но и с высокой микробиологической активностью *in vitro*, обусловленной способностью возбудителя к достаточно быстрой репликации и адаптации к питательной среде без использования многократного пассажирования.

Что касается образцов кишечника от коров № 2 и № 3, то явных макроскопических патологоанатомических паратуберкулезных изменений в кишечнике не наблюдали. В обеих пробах биологического материала отмечали утолщение слизистой обо-

лочка, но без характерной для паратуберкулеза складчатости. При микроскопии мазков-отпечатков со слизистой оболочки кишечника пробы № 2 было выявлено всего одно небольшое скопление кислотостойких палочек, в пробе № 3 КУП не были обнаружены. При микроскопии соскобов с поверхности питательной среды после первого пассажа выявляли частично кислотостойкие и некислотоустойчивые формы в виде бледно-розовых сфероидов, розовой и голубой аморфной массы, что было характерно для клеток с дефектной/отсутствующей клеточной стенкой (*CWD*-формы). После трехразовых последовательных «слепых» пассажей на селективной среде для выделения и культивирования *MAR* явного роста, характерного для

бациллярной формы *MAP*, не отмечали, однако наблюдали рост в виде очень тонкого мутного налета. Отсутствие роста колоний бациллярных форм при стандартных условиях культивирования свидетельствовало о микробиологическом состоянии покоя измененных форм *MAP* и, как следствие, о неспособности клеток к активной репликации и реверсии в первых пассажах. При дальнейших «слепых» пересевах измененные формы постепенно восстанавливали структуру клеточной стенки, в результа-

те чего *CWD*-формы приобретали кислотоустойчивость и формировали палочковидные формы, однако их количество все еще было недостаточным для видимого роста колоний. Так, при микроскопии соскобов с питательной среды после четвертого пассажа наблюдали только кислотоустойчивые формы: отдельные и собранные в скопления сфероиды, фуксиновые зерна, кокковые формы и незначительное количество очень коротких палочек, некислотоустойчивые формы отсутствовали (рисунок 6).

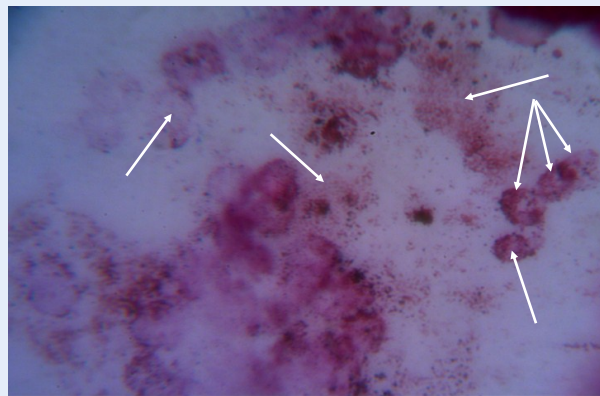


Рисунок 6. – Микроскопия соскоба с поверхности питательной среды, третий пассаж (биоматериал от коровы № 3): скопления сфероидов, кокков и коротких палочек

Способность покоящихся измененных форм *MAP* реверсировать в активное состояние, т. е. образовывать колонии классических бациллярных *S*-форм (кислотоустойчивых палочек) на поверхности питательной среды, восстановилась только после четырех последовательных «слепых» пассажей. Однако следует отметить, что при дальнейших пассажах ($n=6$) активность и интенсивность репликации клеток, а следовательно, и рост этих изолятов на питательной среде оставались на очень низком уровне. Так, для роста *S*-колоний размером до 0,3–0,5 мм требовалось 4–5 месяцев культивирования. Только через 1,5 года постоянных пересевов *S*-колонии культур *MAP-2* и *MAP-3* приобрели *R*-форму, а скорость роста стала аналогичной *MAP-1*.

На основании проведенных *in vitro* исследований установлено, что персистентные покоящиеся (дормантные) *CWD*-формы *MAP* при определенных условиях (многократные пересевы) переходят в активное состояние. Таким образом, суще-

ствует высокая вероятность реверсии и активации покоящихся *MAP in vivo* и, как следствие, активации паратуберкулезного процесса.

ВЫВОДЫ

1. Клиническая форма паратуберкулеза коррелирует с высокими показателями обнаружения *MAP in vivo* и микробиологической активностью *MAP in vitro*.
2. Латентная форма паратуберкулеза обусловлена покоящимися измененными формами *MAP*, которые при благоприятных условиях могут перейти в активное состояние.
3. *R*-субкультуры *MAP* характеризуются более быстрым ростом по сравнению с культурами в *S*-форме.
4. С целью подтверждения диагноза на латентный РТВ при культуральном исследовании необходимо проводить многократные пересевы на яичных средах с фактором роста.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nielsen, S.S. *A review of prevalences of paratuberculosis in farmed animals in Europe* / S.S. Nielsen, N. Toft // *Preventive Veterinary Medicine*. – 2009. – Vol. 88, No. 1. – P. 1–14.
2. Lombard, J.E. *Epidemiology and economics of paratuberculosis* / J.E. Lombard // *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*. – 2011. – Vol. 27, No. 3. – P. 525–535.
3. *World Organization for Animal Health (OIE). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals [Internet] / 7th ed. Vol. 2. Paris: OIE; 2012 (Version adopted in May 2014). Chapter 3.1.15, Paratuberculosis (Johne's disease); [cited: 2019 Okt 1]; p. 544–559. Available from: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.15_PARATB%20.pdf.*
4. *Latent infections are the most frequent form of paratuberculosis in slaughtered Friesian cattle* / P. Vazquez [et al.] // *Spanish Journal of Agricultural Research*. – 2014. – Vol. 12, No 4. – P. 1049–1060.
5. *Identification of cell wall deficient forms of M. avium subsp. paratuberculosis in paraffin embedded tissues from animals with Johne's disease by in situ hybridization* / K. Hulten [et al.] // *Journal of Microbiological Methods*. – 2000. – Vol. 42, No 2. – P. 185–195.
6. *Nielsen, S.S. Transitions in diagnostic tests used for detection of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infections in cattle* / S.S. Nielsen // *Veterinary Microbiology*. – 2008. – Vol. 132. – P. 274–282.
7. *Diagnosis of paratuberculosis in slaughtered calves in the Northwest of Castilla Leon (Spain) by pathological methods* / V. Perez [et al.] // *10th International Colloquium on Paratuberculosis: Conference proceedings*. – Minneapolis: 2009, Aug. 9–14. – P. 184.
8. *Magomedze, G. Evaluation of the «Iceberg Phenomenon» in Johne's disease through mathematical modelling* / G. Magomedze, C. N. Ngonghala, C. Lanzas // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – P. e76636.
9. *Histopathological classification of lesions associated with natural paratuberculosis infection in cattle* / J. Gonzalez [et al.] // *Journal of Comparative Pathology*. – 2005. – Vol. 133. – P. 184–196.
10. *Ulrichs, T. Mycobacterial persistence and immunity* / T. Ulrichs, S.H. Kaufmann // *Frontiers in Bioscience*. – 2002. – Vol. 7. – P. 458–469.
11. *Zhang, Y. Persistent and dormant tubercle bacilli and latent tuberculosis [Text]* // Y. Zhang // *Frontiers in Bioscience*. – 2004. – Vol. 9, No 1. – P. 1136–1156.
12. *Cell wall deficient forms of mycobacteria: a review* / V. Beran [et al.] // *Veterinarni Medicina*. – 2006. – Vol. 51, No 7. – P. 365–389.
13. *Елисеева, И.В. О роли латентных, трудно культивируемых и некультивируемых персистентных бактерий в патологии человека* / И.В. Елисеева, Е.М. Бабич, Ю.Л. Волянский // *Анналы Мечниковского Института*. – 2006. – № 1. – С. 12–46.
14. *Shleeva, M. Dormant of Mycobacteria* / M. Shleeva., E. Salina, A. Kaprelyants // *Mikrobiologiya*. – 2010. – Vol. 79, No. 1. – P. 3–15.
15. *Seiler, P. Cell-wall alterations as an attribute of Mycobacterium tuberculosis in latent infection* / P. Seiler, T. Ulrichs, S. Bandermann // *Journal of Infectious Diseases*. – 2003. – Vol. 188. – P. 1326–1331.
16. *Presence of focal and multifocal paratuberculosis lesions in mesenteric lymph nodes and the ileocaecal valve of cattle positive to the tuberculin skin test* / A. Balseiro [et al.] // *Veterinary Journal*. – 2003. – Vol. 166. – P. 210–212.

наша продукция



УДК 619:579.843.95

Андрусевич А.С., кандидат ветеринарных наук, доцент
Красникова Е.Л., научный сотрудник
Мальчик О.В., научный сотрудник
Стрельченя И.И., кандидат ветеринарных наук, доцент

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

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МУЗЕЙНЫХ ШТАММОВ *PASTEURELLA MULTOCIDA* СЕРОВАРИАНТОВ А, В, D

Резюме

В статье приведены данные по биохимическим свойствам музейных штаммов *Pasteurella multocida* серовариантов А, В, D, установлены отличительные особенности ферментирования отдельных веществ. Серовариантная принадлежность *Pasteurella multocida* подтверждена в полимеразной цепной реакции с помощью разработанной РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелецкого» тест-системы для обнаружения и определения серовариантной принадлежности *Pasteurella multocida* (А, В, D) в полимеразной цепной реакции «Multiplex ПЦР *Pasteurella multocida* (А, В, D)».

Summary

The article presents data on the biochemical properties of museum strains of *Pasteurella multocida* serovariants А, В, D, and distinguishes distinctive features of the fermentation of individual substances. The serovariate affiliation of *Pasteurella multocida* was confirmed in the polymerase chain reaction using the RUE «Institute of experimental veterinary medicine nam. of S.N. Vyshellessky» test system for detection and determination of serovariant affiliation of *Pasteurella multocida* (А, В, D) in the polymerase chain reaction «Multiplex PCR *Pasteurella multocida* (А, В, D)».

Поступила в редакцию 15.11.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Pasteurella multocida является возбудителем, вызывающим заболевание животных и птиц, которое наносит большой экономический ущерб животноводческим, звероводческим, свиноводческим и птицеводческим хозяйствам. Оно опасно и для людей, работающих в животноводстве, птицеводстве, звероводстве. Все пастереллы паразитируют на слизистых оболочках верхних дыхательных путей, а также пищеварительного тракта и часто являются возбудителями вторичных инфекций. Широкое распространение пастереллоносительства, циркуляция слабовирулентных штаммов *Pasteurella multocida* обуславливают актуальность решения проблемы проведения эффективной диагностики пастереллеза [1, 2, 3].

Возбудитель болезни неоднороден в антигенном отношении. Выделяют 5 серовариантов *Pasteurella multocida* по капсуль-

ному антигену, которые обозначаются заглавными латинскими буквами А, В, D, Е, F, и 16 серовариантов по соматическому антигену, обозначаемых арабскими цифрами от 1 до 16 [2, 4].

Антигенный состав пастерелл во многом зависит от типа их колоний. Как известно, пастереллы, кроме трех типов колоний S, M и R, образуют промежуточные формы. Капсульный антиген характерный для гладкого типа S-колоний, никогда не встречается у штаммов с шероховатыми R-типа колониями. Это осложняет реакцию между антигенной субстанцией и капсульной антисывороткой. У слизистых культур капсульный антиген либо совсем отсутствует, либо имеется в недостаточном количестве, потому что этот вариант бактерий имеет гиалуроновую кислоту, которая входит в состав слизи. Данная кислота препятствует взаимодействию К-антигена с соответствующими антителами. Поэтому

потеря способности капсульного антигена культуры реагировать с капсульной антитысывороткой может быть одним из объективных признаков диссоциации, о чем свидетельствует существование «SR»-форм бактерий [5].

По данным литературных источников, *Pasteurella multocida* ферментирует без выделения газа глюкозу, галактозу, сахарозу, ксилозу, маннит, сорбит; микроорганизм неактивен в отношении раффинозы, мальтозы, арабинозы, дульцита, лактозы; образует индол, не всегда выделяет сероводород, молоко не пептонизирует, желатину не разжижает. По отношению к другим углеводам и многоатомным спиртам свойства пастерелл непостоянны и различны. Внутривидовая классификация пастерелл по их отношению к сахарам и близким к ним соединениям в принципе возможна по ферментации трегалозы, сорбита, мальтозы, но большее значение имеет при первичном выделении культуры и видовой идентификации пастерелл [6].

Изучение биохимических свойств возбудителя имеет значение для иммунобиологической оценки штаммов. Так, для разграничения штаммов *P. multocida*, выделенных от млекопитающих и птиц, предлагают использовать тест на определение фосфатазной активности выделенной культуры на твердых средах с участием фенолфталеина дифосфата натрия. Согласно данным Л. Караиванова (1984), выделенные от млекопитающих пастереллы обладают положительной фосфатазной активностью, выделенные от птиц – отрицательной. Автор рекомендует одновременно использовать и тест сбраживания арабинозы, и ксилозы. Выделенные изоляты пастерелл в случаях острой холеры птиц оказывают положительную реакцию на арабинозу и отрицательную на ксилозу, выделенные от млекопитающих пастереллы – наоборот. Ферментативная активность культур не зависит от степени содержания типоспецифического капсульного антигена [5, 7, 8].

Цель работы – изучение биохимических свойств музейных штаммов *Pasteurella multocida* серовариантов А, В, D.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали суточные культуры музейных штаммов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», выращенные на сердечно-мозговом бульоне:

- штамм *Pasteurella multocida* серовариант А (КМИЕВ-67) – штамм-антиген;
- штамм *Pasteurella multocida* серовариант В (КМИЕВ-68) – штамм-антиген;
- штамм *Pasteurella multocida* серовариант D (КМИЕВ-69) – штамм-антиген.

Восстановление бактериологических культур из леофильной сушки проводили следующим образом: флакон с сухой культурой обрабатывали 70°-ным спиртом, обжигали в пламени спиртовки, вскрывали резиновую пробку, растворяли культуру в 1–2 см³ сердечно-мозгового бульона (Brain Heart Infusion Broth фирмы Biolab, Венгрия) и вносили ее в бактериологическую пробирку с сердечно-мозговым бульоном. Культивировали в течение 18–24 часов при температуре от +37 до +38 °С.

Для изучения биохимических свойств музейных штаммов *Pasteurella multocida* суточные бульонные культуры пересеивали на сердечно-мозговой агар (Brain Heart Infusion Agar фирмы Biolab, Венгрия) и культивировали в чашках Петри диаметром 90 мм (фирма Бион, г. Минск) в термостате при температуре 37 °С в течение 18–24 часов.

Для оценки чистоты культуры готовили мазки, которые окрашивали по Граму с использованием готового набора красителей фирмы Sigma-Aldrich.

Изучаемую культуру в виде бактериальной суспензии изолированной колонии готовили в 3 см³ специального солевого раствора производства фирмы Biomerieux (кат. № V1204). Концентрацию измеряли прибором DensiCHEK plus фирмы Biomerieux.

Готовую суспензию с оптической плотностью 0,5–0,63 McF по шкале МакФарланда исследовали для изучения биохимических свойств на приборе Vitek 2 compact, используя кассеты Vitek 2 GN.

Выделение ДНК проводили колоноч-

ным методом набором «ДНК-ВК» (ИБОХ, г. Минск). Концентрацию ДНК измеряли прибором «Nanodrop». Для обнаружения генома *Pasteurella multocida* серовариантов А, В, D использовали разработанную РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» тест-систему для обнаружения и определения серовариантной принадлежности *Pasteurella multocida* (А, В, D) в полимеразной цепной реакции

«Multiplex ПЦР *Pasteurella multocida* (А, В, D)» (ТУ ВУ 600049853.148-2015, г. Минск).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Полученные данные прибора Vitek 2 сопостав по биохимическим свойствам музейных штаммов *Pasteurella multocida* объединили в таблицу для проведения сравнительного анализа.

Таблица 1. – Биохимические свойства музейных штаммов *Pasteurella multocida*

№	Тест	Сокращение	КМИЭВ-67	КМИЭВ-68	КМИЭВ-69
1	2	3	4	5	6
1	Ala-Phe-Pro-АРИЛАМИДАЗА	APPA	-	-	-
2	АДОНИТОЛ	ADO	-	-	-
3	L-пирролидонАРИЛАМИДАЗА	PyrA	-	-	-
4	L-АРАБИТ	IARL	-	-	-
5	D-ЦЕЛЛОБИОЗА	dCEL	-	-	-
6	БЕТА-ГАЛАКТОЗИДАЗА	BGAL	-	-	-
7	ПРОДУКЦИЯ H ₂ S	H ₂ S	-	-	-
8	БЕТА-N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНИДАЗА	BNAG	-	-	-
9	Глютамилариламидаза рNA	AGLTp	-	-	-
10	D-ГЛЮКОЗА	dGLU	+	+	-
11	ГАММА-ГЛЮТАМИЛТРАНСФЕРАЗА	GGT	-	-	-
12	СБРАЖИВАНИЕ ГЛЮКОЗЫ	OFF	-	-	-
13	БЕТА-ГЛЮКОЗИДАЗА	BGLU	-	-	-
14	D-МАЛЬТОЗА	dMAL	-	-	-
15	D-МАННИТ	dMAN	+	-	+
16	D-МАННОЗА	dMNE	+	+	+
17	БЕТА-КСИЛОЗИДАЗА	BXYL	-	-	-
18	БЕТА-аланинариламидаза рNA	BAlap	-	-	-
19	L-пролинАРИЛАМИДАЗА	ProA	-	-	-
20	ЛИПАЗА	LIP	-	-	-
21	ПАЛАТИНОЗА	PLE	-	-	-
22	ТирозинАРИЛАМИДАЗА	TyrA	+	+	+
23	УРЕАЗА	URE	-	-	-
24	D-СОРБИТ	dSOR	-	-	-
25	САХАРОЗА	SAC	+	+	+
26	D-ТАГАТОЗА	dTAG	-	-	-
27	D-ТРЕГАЛОЗА	dTRE	-	-	-
28	ЦИТРАТ (НАТРИЯ)	CIT	-	-	-
29	МАЛОНАТ	MNT	-	-	-
30	5-КЕТО-D-ГЛЮКОНАТ	5KG	-	-	-
31	L-ЛАКТАТ, подщелачивание	PLATk	-	-	-
32	АЛЬФА-ГЛЮКОЗИДАЗА	AGLU	-	-	-
33	СУКЦИНАТ, подщелачивание	SUCT	-	-	-
34	Бета-N-АЦЕТИЛГАЛАКТОЗАМИНИДАЗА	NAGA	-	-	-
35	АЛЬФА-ГАЛАКТОЗИДАЗА	AGAL	-	-	-

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
36	ФОСФАТАЗА	PHOS	+	+	+
37	ГлициНАРИЛАМИДАЗА	GlyA	-	-	-
38	ОРНИТИНДЕКАРБОКСИЛАЗА	ODC	-	-	-
39	ЛИЗИНДЕКАРБОКСИЛАЗА	LDC	-	-	-
40	L-ГИСТИДИН, ассимиляция	IHISa	-	-	-
41	КУМАРАТ	CMT	-	+	-
42	БЕТА-ГЛЮКУРОНИДАЗА	BGUR	-	-	-
43	УСТОЙЧИВОСТЬ К O/129 (вибриостат, агент)	O129R	-	-	-
44	Glu-Gly-Arg-АРИЛАМИДАЗА	GGAA	-	-	-
45	L-МАЛАТ, ассимиляция	IMLTa	-	-	-
46	ЭЛЛМАН	ELLM	-	+	-
47	L-ЛАКТАТ, ассимиляция	PLATa	-	-	-

Исходя из полученных данных, представленных в таблице 1, было установлено, что:

- музейный штамм *Pasteurella multocida* серовариант А (КМИЕВ-67) расщепляет D-глюкозу, D-маннит, D-маннозу, тирозинариламидазу, сахарозу, фосфатазу;

- музейный штамм *Pasteurella multocida* серовариант В (КМИЕВ-68) расщепляет D-глюкозу, D-маннозу, тирозинариламидазу, сахарозу, фосфатазу, кумарат. Положительно реагирует с реактивом Элмана;

- музейный штамм *Pasteurella multocida* серовариант D (КМИЕВ-69) расщепляет D-маннит, D-маннозу, тирозинариламидазу, сахарозу, фосфатазу.

При проведении сравнительного анализа установлено, что музейный штамм *Pasteurella multocida* серовариант В (КМИЕВ-68), в отличие от *Pasteurella multocida* (КМИЕВ-69) и (КМИЕВ-67), ферментирует кумарат, положительно реагирует с реактивом Элмана, но не ферментирует D-маннит.

В свою очередь, *Pasteurella multocida* серовариант D (КМИЕВ-69), в отличие от *Pasteurella multocida* (КМИЕВ-67) и (КМИЕВ-68), не ферментировал глюкозу.

Согласно полученным результатам, музейные штаммы *Pasteurella multocida* КМИЕВ-67, КМИЕВ-68, КМИЕВ-69, выде-

ленные от млекопитающих, ферментируют фосфатазу и не ферментируют L-арабит, что согласуется с литературными данными Л. Караиванова [7].

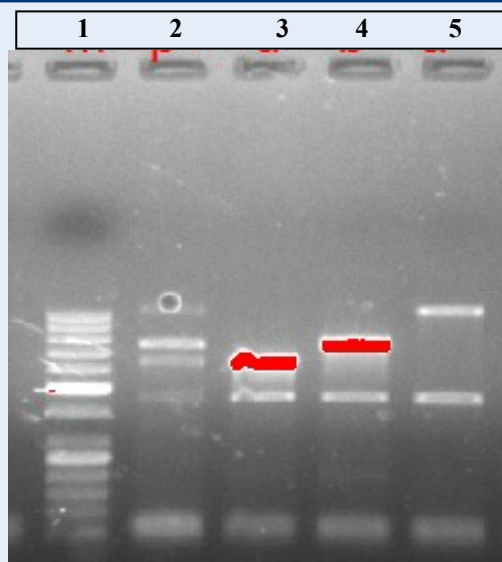
Однако на приборе Vitek 2 compact все три музейных штамма с вероятностью 96–99 % определились как *Pasteurella multocida* без указания серовариантной принадлежности.

В связи с необходимостью уточнения серовариантной принадлежности штаммов *Pasteurella multocida*, использованных в исследованиях, была проведена полимеразная цепная реакция тест-системой для обнаружения и определения серовариантной принадлежности *Pasteurella multocida* (А, В, D) в полимеразной цепной реакции «Multiplex ПЦР *Pasteurella multocida* (А, В, D)».

Аmplификацию ДНК проводили в 23 мкл реакционной смеси с 2 мкл выделенной ДНК. Параметры амплификации были следующие:

- | | |
|------------------|-------------|
| 1. 95 °С – 5 мин | } 30 циклов |
| 2. 95 °С – 60 с | |
| 3. 55 °С – 60 с | |
| 4. 72 °С – 60 с | |
| 5. 72 °С – 7 мин | |

Электрофоретическую детекцию проводили в 2%-ном агарозном геле.



1 – маркер молекулярного веса 50 п.н.,
2 – положительный контрольный образец (соответственно сверху вниз – *Pasteurella multocida* A, *Pasteurella multocida* B, *Pasteurella multocida* D, *Pasteurella multocida*), 3 – *Pasteurella multocida* D, 4 – *Pasteurella multocida* B, 5 – *Pasteurella multocida* A

Рисунок 1. – Результаты электрофоретической детекции продуктов амплификации выделенной ДНК из музейных штаммов *Pasteurella multocida*

В результате проведения ПЦР установлено, что:

- штамм *Pasteurella multocida* серовариант А (КМИЕВ-67) соответствует *Pasteurella multocida* серовариант А;
- штамм *Pasteurella multocida* серовариант В (КМИЕВ-68) соответствует *Pasteurella multocida* серовариант В;
- штамм *Pasteurella multocida* серовариант D (КМИЕВ-69) соответствует *Pasteurella multocida* серовариант D.

ВЫВОДЫ

Проведенные биохимические исследования музейных штаммов *Pasteurella multocida* на приборе Vitek 2 compact показали, что *Pasteurella multocida* серовариант А (КМИЕВ-67) расщепляет D-глюкозу, D-маннит, D-маннозу, тирозинариламидазу, сахарозу, фосфатазу. *Pasteurella multocida* серовариант В (КМИЕВ-68) расщепляет D-глюкозу, D-маннозу, тирозинариламидазу, сахарозу, фосфатазу, кумарат. Положительно реагирует с реактивом Элмана. *Pasteurella multocida* серовариант D (КМИЕВ-69) расщепляет D-маннит, D-маннозу, тирозинариламидазу, сахарозу, фосфатазу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрусевич, А.С. Пастереллез пушных зверей (этиологическая структура и специфическая профилактика): дис. ... канд. ветеринар. наук: 16.00.03 / А.С. Андрусевич. – Минск, 2008. – 154 с.
2. Blackall, P.J. Identification and typing of *Pasteurella multocida*: a review / P.J. Blackall, J.K. Mifflin // *Avian Pathol.* – 2000. – Vol. 29. – P. 271–287.
3. Использование Multiplex ПЦР *Pasteurella multocida* A, B, D для выявления гетерогенности пастерелл в хозяйствах Республики Беларусь / Е.Л. Красникова [и др.] // *Интеграция науки и практики для развития Агропромышленного комплекса: материалы всероссийской науч. конф.* / ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, Тюмень, 10 ноября 2017 г. – С. 247–252.
4. Dabo, S.M. *Pasteurella multocida* and bovine respiratory disease / S.M. Dabo, J.D. Taylor, A.W. Confer // *Animal Health Research Reviews.* – 2008. – V. 8(2). – P. 129–150.
5. Рустамов, Ю.М. Селекция *Pasteurella multocida* с полноценным капсульным антигеном / Ю.М. Рустамов // *Бюл. Всесоюз. НИИЭВ им. Я.П. Коваленко.* – 1982. – Вып. 45. – С. 17–19.
6. Мельников, Н.И. Ферменты патогенности и токсины бактерий / Н.И. Мельников, В.Н. Мельников, М.Г. Гирманов. – М.: Медицина, 1969. – 252 с.
7. Караиванов, Л. Биохимични тестове за идентифициране на *Pasteurella multocida* / Л. Караиванов // *Вет.-мед. науки.* – 1984. – Т. 86, № 8. – С. 38–44.
8. Козарев, А. Биохимично изследване на щамово *P. multocida*, изолирани от преживни животни / А. Козарев, М. Диан Ба // *Сб. тр.* – Харьков, 1988. – С. 28–29.

УДК 619:616-078:637.12.05-619:616.5-002.525

Высоцкий А.Э., кандидат ветеринарных наук, доцент
Лысенко А.П., доктор ветеринарных наук, профессор
Кучвальский М.В., научный сотрудник
Красникова Е.Л., научный сотрудник
Прокопенкова Т.М., научный сотрудник

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

МИКОБАКТЕРИИ ТУБЕРКУЛЕЗА ПОСЛЕ ЛЕТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ МОГУТ ВОССТАНАВЛИВАТЬ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ В ВИДЕ МИКОБАКТЕРИЙ С ДЕФЕКТНОЙ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКОЙ

Резюме

Mycobacterium bovis № 8, инактивированный дезинфектантами, после инкубации в стимуляторе роста и посева на среду ВКГ восстанавливал жизнеспособность в виде форм с дефектной клеточной стенкой (cell wall deficient-CWD), способных после введения *per os* персистировать в организме мышей.

Восстановившие жизнеспособность CWD *M. bovis* из 5 случаев в 2 оказались резистентными к «своей» композиции и в 3 – к «чужой». При повторных контактах у них быстро формировалась резистентность и к другим дезинфектантам. Предполагается, что процесс восстановления жизнеспособности и размножения CWD форм микобактерий можно замедлить ротацией дезинфектантов.

Антигенный состав у восстановивших жизнеспособность CWD форм не отличался от состава CWD изолятов из культуры T-лимфоцитов человека, больного T-лимфобластной лейкемией (*Jurkat*) и из клеток почки эмбриона овцы, инфицированных вирусом бычьего лейкоза (*FLK-BLV*). Предполагается, что восстановившие жизнеспособность микобактерии, попадающие в организм из внешней среды могут быть фактором риска возникновения опухолей.

Summary

Mycobacterium bovis № 8 inactivated by disinfectants after an incubation in a growth stimulant and seed on the VKG nutrition medium restored viability as cell wall deficient mycobacteria CWD), capable after inoculation *per os* to persistence in an organism of mice.

CWD *M. bovis* which restored viability from 5 cases, in 2 were resistant to «the» composition and in 3 – to «others». At repeated contacts they quickly formed resistance and to other disinfectants. It is believed that the process of restoring the viability and reproduction of CWD forms of mycobacteria can be slowed by the rotation of disinfectants.

The antigenic structure at the CWD forms which restored viability did not differ from CWD isolates from the T lymphocytes of the person sick with T-lympho-blastoid leukemia (*Jurkat*) and from the fetal lamb kidney cells infected with the Bovine Leukemic Virus (*FLK-BLV*). It is assumed that CWD MBT getting to an organism from external environment can be risk factor of cancerogenesis.

Поступила в редакцию 24.09.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Больные туберкулезом люди и животные выделяют микобактерии туберкулеза (МБТ), сохраняющие жизнеспособность во внешней среде до 7 лет [1, 2]. В связи с этим дезинфекция – ключевая мера в борьбе с инфекцией. Так как у МБТ мощная липидная клеточная стенка, придающая им устойчивость к химическим веществам [1], для дезинфекции используют специальные композиции и режимы их применения [2].

Микобактерицидный эффект оцени-

вают с помощью биопробы и бактериологического посева [2]. Вместе с тем потеря патогенности МБТ и способности роста на питательных средах после контакта с дезинфектантом – скорее всего, не критерий их полной гибели. Установлено, что МБТ образуют, в частности при повышении температуры, защитные спороподобные формы [3, 4], выдерживающие автоклавирование [5, 6, 7, 8]. В специальных стимуляторах роста и на соответствующих питательных средах они восстанавливают жиз-

неспособность в виде некислоустойчивых (НКУ) МБТ с дефектной клеточной стенкой (cell wall deficient – CWD) [5, 6, 7, 8]. Скорее всего, это не частный эффект *in vitro*, а универсальный защитный механизм при любых стрессах, в том числе при действии дезинфектантов.

До сих пор неизвестно, что происходит с МБТ после контакта с дезинфектантами во внешней среде. Возможно, и при химическом стрессе МБТ образуют защитные формы, которые под действием неопределенных стимулирующих факторов могут восстановить жизнеспособность в виде CWD МБТ и размножаться во внешней среде, так как могут расти в широком температурном диапазоне и на простых питательных субстратах [5, 6, 9]. Вероятно, и типичные КУ МБТ во внешней среде под действием трансформирующих факторов (феномен «голодания» [10, 11]) также могут превращаться в CWD формы. Еще в конце XIX века J. Ferran выдвинул гипотезу о том, что типичные МБТ – лишь незначительная часть популяции, а их большая часть существует во внешней среде в виде НКУ (CWD) форм [12, 13]. Гипотеза не подтверждена, но и не опровергнута, особенности существования МБТ во внешней среде, в том числе после контакта с дезинфектантами, пока неизвестны.

Цель исследований – изучение способности МБТ образовывать защитные формы под действием дезинфектантов и свойств культур, в виде которых они восстанавливают жизнеспособность.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штамм *Mycobacterium bovis* 8 выращивали на среде Левенштейна-Йенсена (Л-И), бактериальную массу (4,5 мг/мл) гомогенизировали в воде. Суспензии разливали в 2 ряда пробирок: I ряд – для оценки действия дезинфектантов на МБТ, II – для изучения восстановления жизнеспособности МБТ после контакта с дезинфектантами. В пробирки добавляли равный объем дезинфектантов (таблица 1) с удвоенной концентрацией. Контролем служила смесь суспензии МБТ с водой (1:1). Смеси гомо-

генизировали и выдерживали 60 мин при температуре 22 °С. Бактериальную массу отмывали водой (14000 об/мин, однократно). К отмытому осадку I ряда пробирок добавляли 0,9 % раствора хлорида натрия, в пробирки II ряда вносили стимулятор роста ВКГ (патент Украины № 43467). Суспензии из I ряда пробирок высевали на среду Л-И (по 0,3 мл на пробирку). Пробирки II ряда инкубировали 24 ч при 37 °С, суспензии высевали по 0,3 мл на пробирки со средой ВКГ (патент Украины № 43467).

Посевы инкубировали при температуре 37 °С. Через 10 суток проводили I «слепой» пересев, который повторяли 3 раза с интервалом в 24 ч. При получении видимого роста колоний изоляты культивировали на питательной среде MucSel DW (Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского).

Мазки изолятов окрашивали по Киную и дифференцирующим иммунопероксидазным методом (ДИП) с использованием аффинно-очищенных антител к *M. bovis* [14]. Микроскопию проводили на Olympus B51X, 10×100.

Изоляты идентифицировали в полимеразной цепной реакции (ПЦР). Бактериальную массу в лизирующем буфере (0,4 мг/мл) прогревали 5 мин при температуре 95 °С. ДНК выделяли на колонках с сорбентом (ИБОХ НАНБ). Амплификацию проводили на C1000TM ThermoCycler (BioRad) с праймерами 16S RNA *Mycobacteria*, MPV 70, MPV 64 («Праймтех»). Электрофорез амплификатов проводили в 2%-ном агарозе, результаты учитывали на Molecular Imager GelDocTM XR+ (BioRad). Кроме того, ДНК изолятов исследовали в ПЦР в реальном времени с праймерами IS 6110.

Антигенный состав изолятов, дезинтегрированных на Bandelin Sonopuls 2400, изучали в реакции иммунодиффузии (РИД) с использованием кроличьих антител к соникатам CWD *M. bovis* 8 и к CWD МБТ, выделенных из фильтрата (0,22 µm) культуральной жидкости клеток почки эмбриона овцы, инфицированных вирусом бычьего лейкоза (FLK-BLV) се-

рии «НС» [15, 16]. Для сравнения использовали соникаты CWD МБТ из лимфатического узла коровы, больной туберкулезом, CWD *M. bovis* 8, CWD МБТ из культуры Т-лимфоцитов человека, больного Т-лимфобластной лейкемией «Jurkat», CWD МБТ из культуральной жидкости FLK-BLV серии 30 [15].

Чувствительность изолятов к дезинфектантам определяли в диффузионном тесте. Чашки Петри с питательной средой МусСел DW засеивали изолятами. В слое среды вырезали лунки, в которые вносили по 85 мкл дезинфицирующих композиций, указанных в таблице 1, но в концентрации 1,5 %. Через 24 ч культивирования при температуре 37 °С учитывали размеры зон задержки роста. Для последующего пассажа делали посев с границ зон задержки роста каждой композицией. Контролем служил изолят CWD МБТ «D» из крови человека, больного саркомой.

Патогенность изолята CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид» определяли на белых мышах массой 25–30 г. Суспензию культуры (0,5 мг/мл) вводили 5 животным *per os* по 0,5 мл (по 0,25 мг). Из легких, печени, селезенки павших животных был приготовлен гомогенат, который подкожно ввели 2 белым мышам. Мазки-отпечатки из органов павших животных и мест инъекций окрашивали по Kinyoun и ДИП методом [14]. Гомогенаты органов деконтаминиро-

вали 6%-ной щавелевой кислотой и после 24 ч инкубации в стимуляторе роста ВКГ высевали на среду МусСел DW.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установлено, что 3%-ный щелочной раствор формальдегида и композиция на основе глутарового альдегида полностью инактивировали МБТ. Достаточно эффективно действовали композиции на основе ПГМГ и ЧАС, подавляя 98–98,9 % клеток МБТ. Слабее действовала композиция органических кислот и ЧАС, после контакта с которой выжило около 7 % клеток МБТ (таблица 1).

Посев на среду ВКГ обработанных дезинфектантами МБТ, инкубированных в стимуляторе роста, видимого роста не дал, но с помощью «слепых» пересевов во всех случаях удалось получить рост визуально заметных колоний. Раньше всех, в I «слепом» пересеве, появился рост колоний в посевах МБТ после обработки композицией на основе ПГМГ (изолят CWD МБТ «ПГМГ 3¹»). Далее, III «слепой» пересев дал рост изолята CWD МБТ № 4 «ЧАС». На сутки позже, но во II слепом пересеве обнаружен рост изолятов CWD МБТ № 5 «ЧАС + органические кислоты» и № 2 «Глутаровый альдегид». Самым последним, после 18 суток инкубирования, в I «слепом» пересеве получен рост колоний CWD МБТ № 1 «Формальдегид».

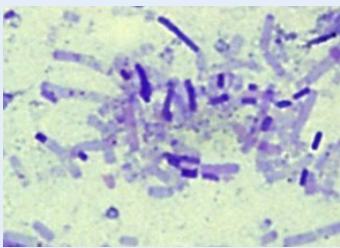
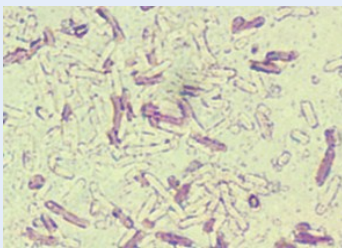
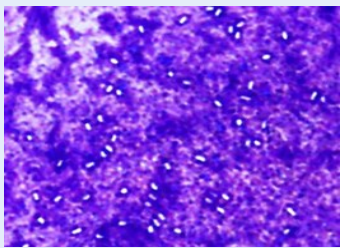
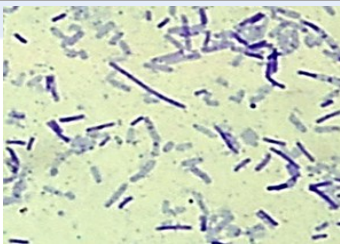
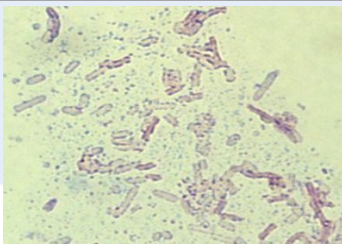
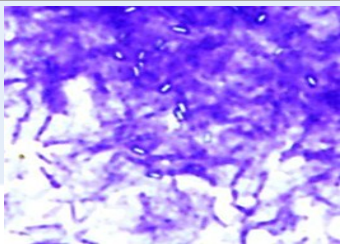
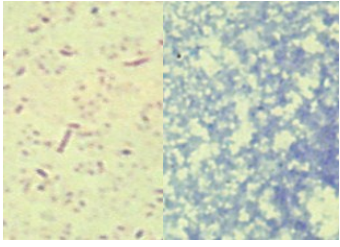
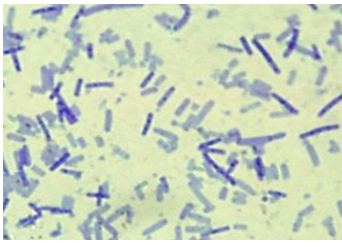
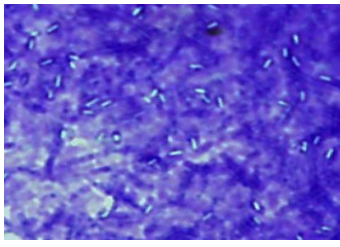
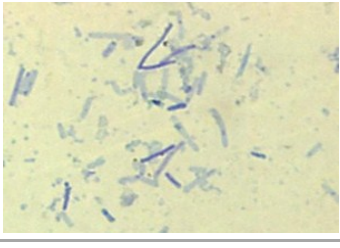
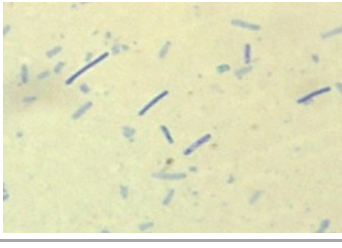
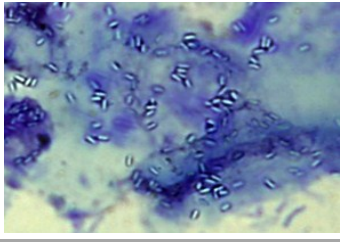


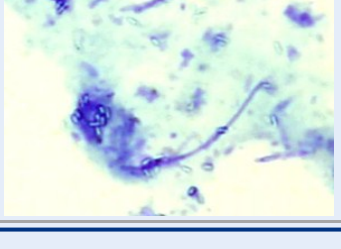
Таблица 1. – Композиции дезинфицирующих веществ и их действие на *M. bovis* (число колониеобразующих единиц на 1 пробирку среды Л-И через 3 недели культивирования)

№ п/п	Концентрация композиции в суспензии, активно действующее вещество (АДВ)	КОЕ /0,3 мл на среде Л-И	% эффективности
1	3 % формальдегид в 3 % растворе гидроксида натрия	0	100
2	2 % глутаровый альдегид	0	100
3	2 % полигексаметиленгуанидин (ПГМГ)	18	98
4	2 % ЧАС (октилдецилдиметил аммония хлорид, диоктилдиметил аммония хлорид, дидецилдиметил аммония хлорид, алкилдиметилбензалкония хлорид)	9,5	98,9
5	2 % ЧАС (бензалконий хлорид, муравьиная и бензойная кислота, бензолтриазол)	65,5	92,7
	Контроль (вода)	900	0

Изоляты (таблица 2) представляли собой типичные для CWD МБТ полиморфные некислотоустойчивые (НКУ) палочковидные формы с примесью коккоидов, а также «пустых» неокрашивавшихся спороподобных форм (таблица 2, III колонка). Исключение составил изолят «ПГМГ 3¹»,

росший в виде частично кислотоустойчивого (ЧКУ) и НКУ детрита с единичными ЧКУ палочками (таблица 2a). Кроме того, в изолятах № 1 «Формальдегид» и № 2 «Глутаровый альдегид» присутствовала примесь ЧКУ и неокрашенных палочек (таблица 2).

Таблица 2. – Морфология культур, выросших после воздействия дезинфектантов на *M. bovis* (рост в I пересеве)

Изолят CWD МБТ № 1 «Формальдегид»		
		
Изолят CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид»		
		
Изоляты CWD МБТ «ПГМГ 31» (a) и «ПГМГ 32» (b, c)		
		
a	b	c
Изолят CWD МБТ № 4 «ЧАС»		
		
Изолят CWD МБТ № 5 «ЧАС + органические кислоты»		
		

Изоляты при ДИП окраске реагировали с антителами к *M. bovis*, специфически окрашиваясь в коричневый цвет (рисунок 7) и по результатам ПЦР (рисунок 1, таблица 3) могли быть отнесены к МБТ. С учетом их НКУ и полиморфизма это были CWD формы *M. bovis*. Они имели практически идентичный антигенный состав с экспе-

риментально полученным штаммом CWD *M. bovis* 8, изолятами CWD МБТ из лимфатического узла коровы, больной туберкулезом, из культуры Т-лимфоцитов человека, больного Т-лимфобластной лейкемией, из культуральной жидкости клеток почки эмбриона овцы, инфицированных вирусом бычьего лейкоза (FLK-BLV) (рисунок 2).

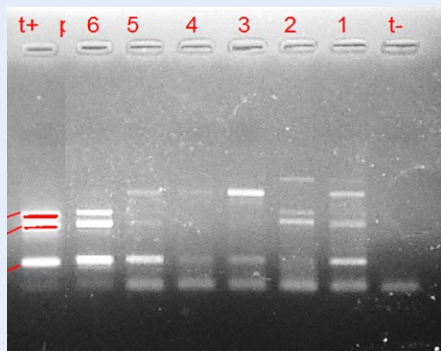


Рисунок 1. – Детекция продуктов амплификации ДНК изолятов с праймерами 16s RNA, MPB 70, MPB 64 (сверху-вниз): 1 – CWD МБТ № 4 «ЧАС»; 2 – CWD МБТ № 3¹ «ПГМГ 3¹»; 3 – CWD МБТ «ПГМГ 3²»; 4 – CWD МБТ № 1 «Формальдегид»; 5 – CWD МБТ № 5 «ЧАС + органические кислоты»; 6 – CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид»

Таблица 3. – Результаты идентификации в ПЦР культур, выделенных после летального воздействия дезинфектантов

№	Изоляты	16s RNA	MPB70	MPB64	Ct real time IS6110
1	CWD МБТ «Формальдегид»	±	+	+	не иссл.
2	CWD МБТ «Глутаровый альдегид»	+	+	+	30.15
3 ¹	CWD МБТ «ПГМГ 3 ¹ »	+	+	+	32.38
3 ²	CWD МБТ «ПГМГ 3 ² »	±	-	+	33.37
4	CWD МБТ «ЧАС»	±	-	+	29.64
5	CWD МБТ «ЧАС + органические к-ты»	±	+	+	30.18
	К+	+	+	+	23.70
	К-	-	-	-	N/A

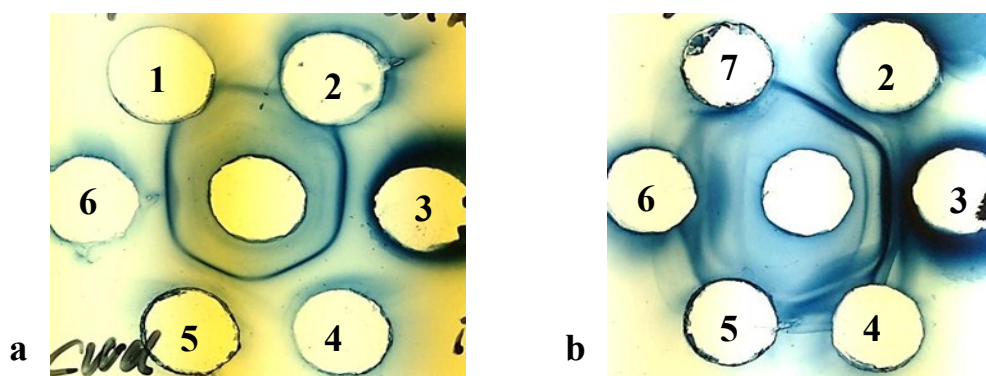


Рисунок 2. – РИД антисывороток (в центре): а – к CWD *M. bovis* 8; б – к изоляту CWD МБТ «НС» из культуральной жидкости FLK-BLV, профильтрованной через фильтр 0,22 м.

В периферических лунках соникаты: 1 – CWD МБТ из лимфатического узла коровы, больной туберкулезом; 2 – CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид»; 3 – № 5 «ЧАС + органические кислоты»; 4 – CWD МБТ «ПГМГ 3²»; 5 – CWD *M. bovis* 8; 6 – изолят CWD МБТ из культуры Т-лимфоцитов человека, больного Т-лимфобластной лейкемией «Jurkat». б – аналогичное положение лунок с соникатами; 7 – CWD МБТ из культуральной жидкости FLK-BLV серии «НС»

В таблице 4 и на рисунках 3–5 представлены результаты определения действия дезинфектантов на восстановившие жизнеспособность CWD МБТ. Судя по размерам зон задержки роста в I пассаже, они оказались на 35–50 % устойчивее, чем контрольный изолят CWD МБТ «D» из крови человека, больного саркомой, не контактировавший с дезинфектантами. Более того, оказались резистентными:

- CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид»

дегид» – к «своей» композиции и к «ПГМГ» (таблица 4, рисунок 3),

- CWD МБТ «ПГМГ 3²» – к «своей» композиции (таблица 4),

- CWD МБТ «ЧАС» – к композиции «ПГМГ».

Даже если некоторые композиции давали относительно большие зоны задержки роста, устойчивость изолятов к ним заметно повысилась уже после первого контакта (таблица 4).

Таблица 4. – Действие дезинфицирующих веществ в диффузионном тесте на CWD МБТ, восстановившие жизнеспособность после обработки дезинфектантами (зоны задержки роста в мм)

Композиции	I пассаж	II пассаж	III пассаж
Изолят CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид»			
1,5 % «Глутаровый альдегид»	0	-	-
1,5 % «ПГМГ»	0	-	-
1,5 % «ЧАС»	38	31	33
1,5 % «ЧАС + органические кислоты»	33	27	28
Изолят CWD МБТ «ПГМГ 3 ² »			
1,5 % «Глутаровый альдегид»	23	23	23
1,5 % «ПГМГ»	16	15	15
1,5 % «ЧАС»	27	23	23
1,5 % «ЧАС + органические кислоты»	19	20	20
Изолят CWD МБТ № 4 «ЧАС»			
1,5 % «Глутаровый альдегид»	19	15	-
1,5 % «ПГМГ»	0	0	-
1,5 % «ЧАС»	28	20	19
1,5 % «ЧАС + органические кислоты»	18	13	14
Изолят CWD МБТ № 5 «ЧАС + органические кислоты»			
1,5 % «Глутаровый альдегид»	21	15	-
1,5 % «ПГМГ»	10	0	-
1,5 % «ЧАС»	28	18,5	18
1,5 % «ЧАС + органические кислоты»	20	15	11
Изолят «D» (контроль)			
1,5 % «Глутаровый альдегид»	28	25	20
1,5 % «ПГМГ»	24	13	12
1,5 % «ЧАС»	43	40	39
1,5 % «ЧАС + органические кислоты»	36	32	25

В опыте на белых мышах была проверена патогенность изолята CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид» введением per os 0,25 мг бактериальной массы. В первые двое суток из 5 зараженных мышей погибло 3. У мышей отмечались воспалительные изменения в легких, у двух животных на легочной и костальной плевре был светлый налет. У одной мыши отмечено заметное увеличение селезенки. В легких, печени и

селезенке (рисунок 6) были обнаружены специфически окрашенные палочковидные и кокковидные формы с характерной для CWD МБТ морфологией [15]. Налет на плевре практически полностью состоял из клеток CWD МБТ (рисунок 6а). Обнаруженные изменения и результаты микроскопии указывали на высокую вероятность гибели животных от сепсиса.

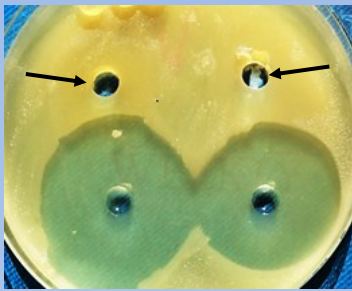


Рисунок 3. – Действие композиций на основе глутарового альдегида, ПГМГ (верхние лунки слева-направо) «ЧАС» и «ЧАС + органические кислоты» (нижние лунки) на изолят CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид». Стрелки – отсутствие зон задержки роста композициями на основе глутарового альдегида и ПГМГ

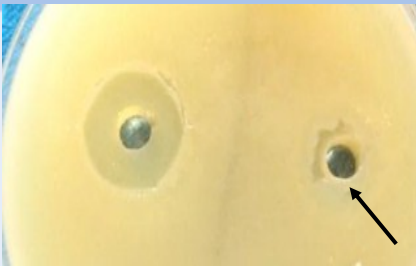


Рисунок 4. – Действие композиций на основе глутарового альдегида и ПГМГ (слева-направо) на изолят CWD МБТ № 4 «ЧАС». Стрелка – отсутствие зоны задержки роста композицией на основе ПГМГ

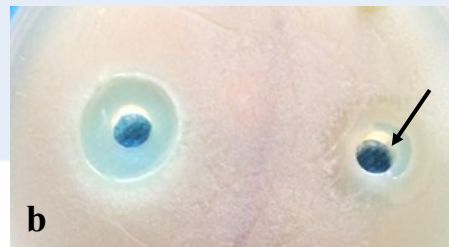
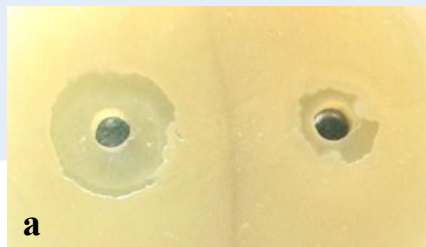


Рисунок 5. – Действие композиций на основе глутарового альдегида и ПГМГ на изолят CWD МБТ № 5 «ЧАС + органические кислоты» в I (a) и II (b) пассаже. Стрелка – отсутствие зоны задержки роста композицией на основе ПГМГ во II пассаже

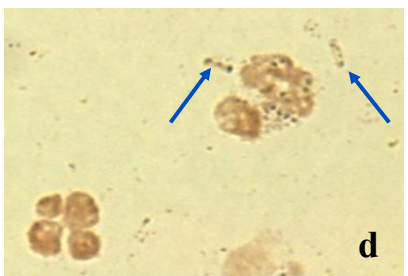
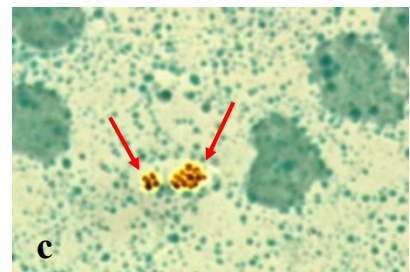
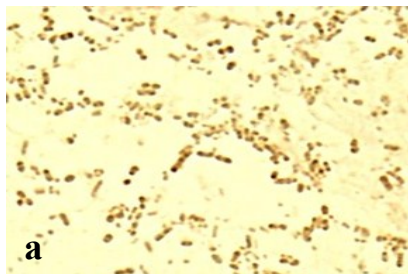


Рисунок 6. – Мазки-отпечатки тканей мышей, павших после заражения CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид»: a – налет на легких и плевре (исключительно CWD МБТ); b – легкие; c – селезенка; d – печень

Явления сепсиса с интенсивным размножением CWD МБТ в тканях зараженных мышей подтвердили и результаты введения 2 мышам гомогената органов павших животных. Обе пали в течение 2 суток. В

месте инъекции обнаруживалась гноеподобная масса с большим количеством специфически окрашенных клеток с характерной морфологией штамма, использованного для заражения (рисунки 7, 8).

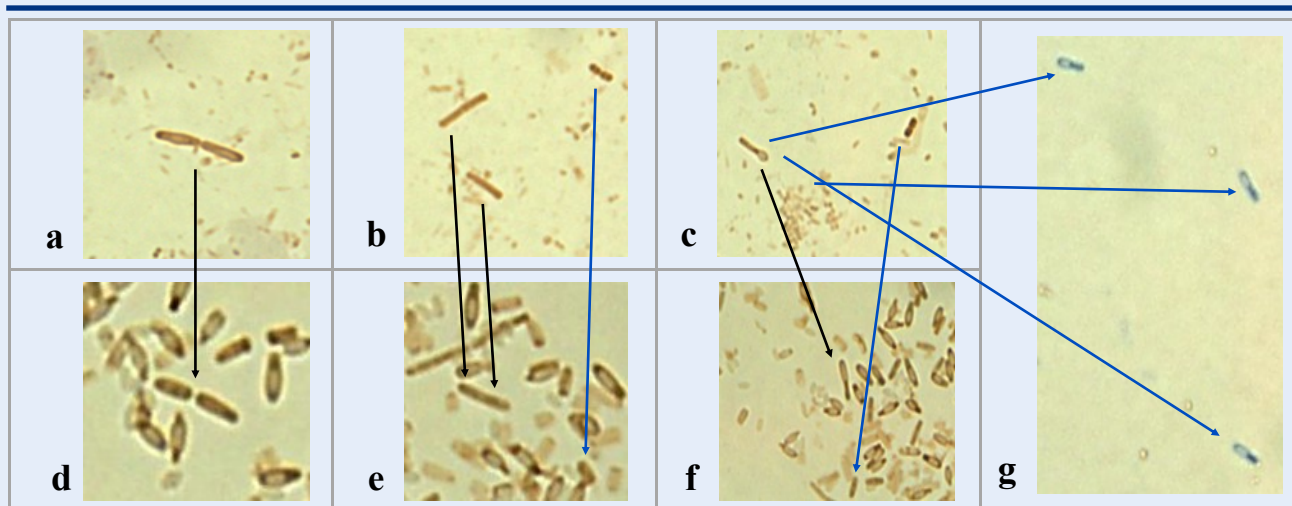


Рисунок 7. – Место инъекции гомогената органов мышей, зараженных per os CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид» (a, b, c), культура CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид», использованная для заражения (d, e, f), культура, выделенная от мыши, павшей после введения гомогената внутренних органов мышей, зараженных per os CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид»

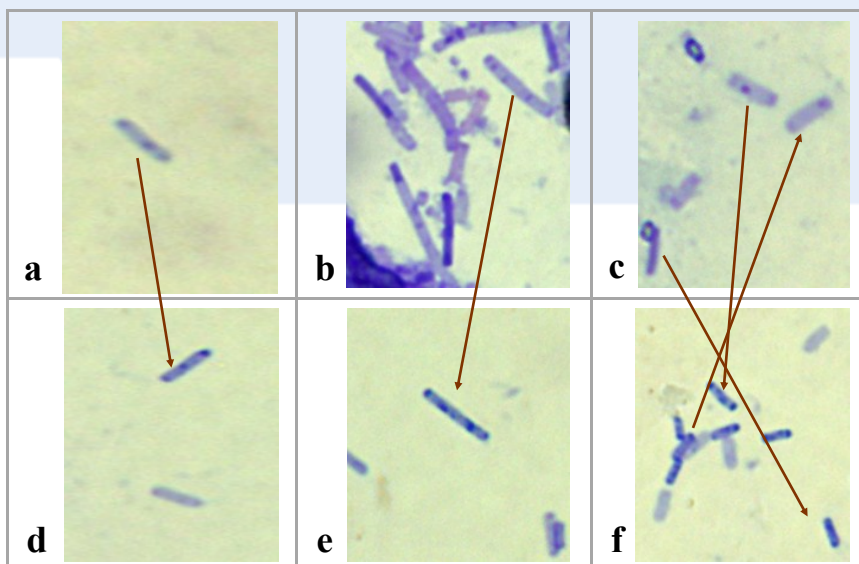


Рисунок 8. – Одинаковые формы в культуре CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид» (a, b, c) и в изоляте от мыши, павшей после введения гомогената внутренних органов мышей, зараженных per os CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид» (d, e, f)

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Посев на среду Л-И показал, что щелочной раствор формальдегида и композиция на основе глутарового альдегида полностью инактивировали МБТ. Дезинфектанты с ПГМГ и ЧАС подавляли 98–98,9 % клеток, а композиция «ЧАС + органические кислоты» с меньшим спектром ЧАС инактивировала 92,7 % клеток МБТ. Тем не менее, после инкубации «убитых» МБТ в стимуляторе роста и посева на питательную среду ВКГ во всех случаях удалось получить восстановление жизнеспособности в виде CWD МБТ. То есть при летальном

контакте с дезинфектантами, как и при термическом стрессе [6, 7, 8], МБТ образовывали защитные формы. В этом процессе можно предполагать участие белков теплового шока (hsp 65, hsp 70), способствующих сохранению жизнеспособности МБТ в макрофагах в условиях гипоксии, голодания, действия ферментов и окислителей [18, 19].

В восстановлении жизнеспособности, на наш взгляд, основную роль играют стимуляторы роста (ВКГ, МусСел DW). Предполагается, что они активизируют поступление в защитные формы водных раство-

ров, стимулируют Са-зависимые ферменты [5] и, возможно, синтез ростовых факторов, ускоряющих, даже в субпиколярных концентрациях, рост микобактерий [20]. Появлению колоний также способствовали «слепые» пересевы, использующиеся при выделении CWD МБТ [11, 17], при которых, вероятно, переносятся ростовые факторы, обеспечивается контакт и взаимодействие клеток.

МБТ восстанавливали жизнеспособность в виде полиморфных НКУ форм с типичной для CWD МБТ морфологией [16]. То, что полученные культуры не были результатом контаминации, подтверждало наличие общих антигенов с *M. bovis* и специфичные для вида участки ДНК.

Можно предполагать, что установленное *in vitro* явление из-за природной целесообразности может происходить и во внешней среде, где есть водные растворы и условия «голодания». Более того, восстановившие жизнеспособность CWD МБТ, скорее всего, способны в ней размножаться, так как *in vitro* они растут при температуре ниже 37 °С и на простых питательных субстратах [7, 9].

Восстановившие жизнеспособность CWD МБТ при введении *per os* приживались и персистировали в организме мышей. То есть, проникая с пищей, водой, аэрозолями, они могут инфицировать людей и сельскохозяйственных животных. Маловероятно, что CWD МБТ способны быстро трансформироваться в типичные патогенные МБТ. Даже частичная реверсия при целенаправленных попытках индукции происходит крайне редко [7, 9, 17, 21]. В частности, реверсию клинического изолята L-формы МБТ удалось получить только после 13 пассажей на морских свинках [27]. Важнее то, что существует определенная связь персистенции CWD МБТ с канцерогенезом [9, 15, 16, 23, 24, 25, 26]. Результаты изучения антигенного состава полученных культур в известной степени это подтверждают. Известно, что CWD МБТ разного происхождения могут отличаться по антигенному составу [21, 22], но у восстановивших жизнеспособность культур он

был практически идентичным и не отличался от антигенного состава изолятов CWD МБТ из культуры Т-лимфоцитов человека, больного Т-лимфобластной лейкемией (Jurkat) и из клеток почки эмбриона овцы, инфицированных вирусом бычьего лейкоза (FLK-BLV) [15, 16]. Нельзя исключить, что CWD МБТ, поступающие в организм из внешней среды, могут быть фактором риска возникновения опухолей [26].

Восстановившие жизнеспособность CWD МБТ отличались не только повышенной устойчивостью, но и полной резистентностью к определенным дезинфектантам. В частности, рост CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид» не подавляла «своя» дезинфицирующая композиция. Вероятно, МБТ каким-то образом кодировали информацию о летальном агенте, а, восстанавливаясь, экспрессировали факторы защиты белков и ДНК. Так как штамм CWD МБТ № 2 «Глутаровый альдегид» оказался резистентным и к ПГМГ, разрушающим цитоплазматические мембраны за счет электростатического взаимодействия с кислыми фосфолипидами [28], можно предположить, что в каких-то генах МБТ кодируется информация о факторах защиты, а восстановившиеся клетки экспрессируют функционирование защитных механизмов. Вероятно, механизм защиты мог становиться универсальным, так как при повторных контактах изолятов с дезинфектантами, оказывавших ингибирующее действие, резистентность появлялась уже после 1–2 контактов.

Безусловно, существование МБТ во внешней среде и образование защитных форм при стрессах нуждаются в дальнейшем изучении, но уже сейчас ясно, что дезинфекция борется с формой МБТ, вызывающей туберкулез, но не исключает проблему восстановления их жизнеспособности и возможных эффектов, вызываемых восстановившими жизнеспособность CWD МБТ. Если процесс восстановления жизнеспособности МБТ невозможно предотвратить, замедлить образование CWD МБТ можно ротацией дезинфектантов с разными АДВ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Модель, Л.М. Биология и биохимия туберкулезных микобактерий / Л.М. Модель. – М., 1952. – 247 с.
2. Колычев, Н.М. Методы индикации и обезвреживания микобактерий туберкулеза на объектах внешней среды: дис. д-ра ... ветеринар. наук / Н.М. Колычев. – Омск, 1983. – 436 с.
3. Sporulation in mycobacteria / J. Ghosh [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009, 106 (26):10781-10786.
4. Identification and Characterization of a Spore-Like Morphotype in Chronically Starved *Mycobacterium avium* Subsp / E. Lamont [et al.] // *Paratuberculosis Cultures*. PLoS. – 2012. – 7(1).
5. Власенко, В.В. Туберкулез в фокусе проблем современности / В.В. Власенко. – Винница: Наука, 1998. – 350 с.
6. Изучение термической устойчивости микобактерий туберкулеза / А.П. Лысенко [и др.] // *Проблемы туберкулеза и болезней легких*. – 2007. – № 2. – С. 42–46.
7. The tuberculin skin test: how safe is safe? The tuberculins contain unknown forms capable of reverting to cell-wall-deficient mycobacteria / A.P. Lysenko [et al.] // *Clinical and experimental medical sciences*. – 2014. – Vol. 2. – № 1-2. – P. 55–73.
8. Лысенко, А.П. Микобактерии туберкулеза при термическом воздействии образуют защитные формы, проходящие через ультрафильтры и восстанавливающие жизнеспособность в виде CWD форм / А.П. Лысенко, М.В. Кучвальский, В.В. Власенко // *Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария*. – 2019 – № 1. – С. 33–45.
9. Mattman, L. *Cell Wall Deficient Forms – Stealth Pathogens*. CRC Press Boca Raton 3rd ed., 2001. – 416 p.
10. Nyka, W. *Studies on the Effect of Starvation on Mycobacteria* / W. Nyka. // *Infection and Immunity*. – 1974. – Vol. 9. – № 5. – P. 843–850.
11. Slavchev, G. *Stress-induced L-forms Mycobacterium bovis: a challenge to survivability* / G. Slavchev, L. Michailova, N. Marcova // *New Microbiologica* 2013; 36: 157–166.
12. Ferrán, J. *Note relative aux aptitudes saprophytes du bacilli de la tuberculose, a ses affinités avec le bacille du typhus et le coli-bacille et aux propriétés immunisantes et thérapeutiques que possède ce bacilli converti en saprophyte*. *Comptes rendus de l'academia de sciences de Paris. Séance du 11 octobre 1897. Tome 125*. – P. 515–518.
13. Ferrán, J. *Evolucion de la tuberculosis*. Zaragoza, *Clinica Moderna, Enero, 1903*.
14. Выявление микобактерий туберкулеза в тканях с помощью дифференцирующей иммунопероксидазной окраски / А.П. Лысенко [и др.]. // *Туберкулез и болезни легких*. – 2014, № 10. – С. 55–58.
15. Further evidence for Cancer as Cell-wall-deficient Mycobacterial Disease / A.P. Lysenko [et al.] // *Journal of Molecular Pathological Epidemiology*. – 2016. – Vol. 1. – № 1:8. – P. 1–12.
16. Вирус бычьего лейкоза – вирусоподобная форма микобактерий туберкулеза? / А.П. Лысенко [и др.] // *Экология и животный мир*. – 2019. – № 1. – С. 15–25.
17. Markova, N. *Unique biological properties of Mycobacterium tuberculosis L-form variants: impact for survival under stress* / N. Markova, G. Slavchev, L. Michailova // *International Microbiology*, 2012; 15:61–68.
18. *On the killing of mycobacteria by macrophages* / L. Jordao [et al.] // *Cell Microbiol*. – 2008. – 10. – P. 529–548.
19. Richter K., Haslbeck M., Buchner J. *The heat shock response: life on the verge of death*. *Mol Cell*. – 2010. – 40. – P. 253–266.
20. *A family of autocrine growth factors in Mycobacterium tuberculosis* / G. Mukamolova [et al.] // *Molecular Microbiology* 2002; 46 (3): 623-35.
21. Diller, I. *Three similar strains of pleomorphic acid-fast organisms isolated from rat and mouse tissues and from human blood*. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 1962 Dec; 86:932-935.
22. Особенности антигенного состава измененных форм микобактерий туберкулеза / А.П. Лысенко [и др.] // *Проблемы туберкулеза и болезней легких*. – 2010. – № 10. – С. 54–58.
23. Guliang, H., Tefu, L. *Mycobacterium tuberculosis L-forms*. *Microbial Ecology in Health and Disease* 1999; 10: 129-133.
24. Tian Yan-sheng, Cui Xing-kun, Zhang Wei, et al. *Detection of Mycobacterium tuberculosis L forms and MPB 64 gene in breast cancer tissues*. *J. of Practical Medicine*; 2013-15.
25. Yansheng Tian, Tong Hao, Bin Cao et al. *Clinical End-Points Associated with Mycobacterium tuberculosis and Lung Cancer: Implications into Host-Pathogen Interaction and Coevolution*. *Bio Med Research Intern*. Vol. 2015.
26. Broxmeyer, L. *Cancer and the Science of Denial*. *J. Tumor Med Prev* 2017. – Vol. 1. – Issue 3. – P. 1–25.
27. Земскова, З.С. *Скрыто протекающая туберкулезная инфекция* / З.С. Земскова, И.Р. Дорожкова. – М.: Медицина, 1984. – 222 с.
28. Maris, P. *Modes of action of disinfectants*. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 1995,14.

УДК 619:615.37:636.22/.28

Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук, доцент
Згировская А.А., кандидат биологических наук
Толяронок Г.Е., кандидат ветеринарных наук
Морозов А.М., младший научный сотрудник
Герасименко В.И., ведущий технолог
Виршич А.В., ведущий технолог

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

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА «РЕСПИФАГ» НА ОСНОВЕ БАКТЕРИОФАГА И ИММУНОСТИМУЛЯТОРА НА ОБМЕННЫЕ ПРОЦЕССЫ И ИММУНИТЕТ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме

Статья посвящена изучению терапевтической и профилактической эффективности ветеринарного препарата при респираторной патологии у телят. Препарат оказывает иммуностимулирующее действие на организм молодняка крупного рогатого скота.

Summary

The article is devoted to the study of therapeutic and prophylactic efficacy of the veterinary preparation at respiratory pathology in calves. The preparation has immunostimulating effect on the organism of young cattle.

Поступила в редакцию 12.11.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Всесторонние исследования по изучению бактериофагов, выполненные за последние 40–45 лет, позволили широко использовать их для решения многих задач в микробиологии, вирусологии, генетике, биохимии, иммунологии, радиобиологии, биотехнологии и других областях биологии. Поэтому бактериофагия, развивающаяся вначале как узкая область медицинской микробиологии, в настоящее время приобрела общебиологическое значение [1, 2, 8].

Бактериофаги являются отличной альтернативой антибиотикам, поскольку, по сравнению с химическими препаратами, обладают следующими преимуществами [3, 4, 10]:

- высоко специфичны при лечении инфекций, не подавляют нормальную микрофлору и не нарушают естественный баланс внутренней среды организма, т.е. фаготерапия является этиотропной, специфической;
- не имеют противопоказаний к применению;
- могут использоваться не только

для лечения, но и для профилактики бактериальных инфекций;

- не вызывают развития резистентности микроорганизмов;
- оказывают стимулирующее влияние на гуморальное и клеточное звенья иммунитета;
- не обладают токсическим, аллергическим и тератогенным эффектами;
- эффективны в монотерапии, но могут применяться и в комбинации с другими препаратами, в т.ч. с антибиотиками и пробиотиками.

Бактериофаги широко используются в ветеринарии в качестве лечебных и профилактических средств, особенно эффективен стафилококковый бактериофаг при лечении маститов у коров. Препараты бактериофага назначают внутрь при заболеваниях внутренних органов либо местно, непосредственно на очаг поражения. Действие фага проявляется уже через 2–4 часа после его введения (что особенно важно в условиях реанимации). Бактериофаги проникают в кровь, лимфу и выводятся через почки, санируя мочевыводящие пути [5, 6, 7, 9].

Средства с бактериофагами широко применяются для лечения животных в следующих случаях:

- при необходимости профилакирования и лечения болезней птиц и животных, имеющих бактериальную этиологию;
- при гнойно-воспалительных заболеваниях слизистых оболочек глаз и ротовой полости;
- при профилактике гнойно-воспалительных осложнений, когда речь идет о лечении ожогов, различного рода ран, а также после проведения хирургических операций;
- велика роль средств с бактериофагами в профилактике и лечении у молодняка животных желудочно-кишечных заболеваний, являющихся проблемой, сопряженной с огромным экономическим ущербом, который повсеместно терпят животноводческие хозяйства [4, 5, 6, 7].

В связи с вышеизложенным разработка препаратов на основе бактериофагов представляется актуальной.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Отработку оптимальных терапевтических доз препарата «Респифаг» проводили в ОАО «Агрофирма имени Суворова».

Были сформированы 7 групп телят по 5 голов в возрасте от 2 до 4 месяцев с признаками респираторной патологии. Животным первой группы вводили трахеально препарат в объеме 2 мл, содержащий бактериофаг клебсиелловый с титром $3,5 \times 10^5$ БОЕ/мл и вспомогательный компонент липополисахарид в концентрации 10 мкг/кг. Телятам второй группы вводили такой же объем препарата с указанным выше титром и концентрацией липополисахарида 20 мкг/кг. Третья группа животных получала препарат в таком же объеме и с таким же титром, но концентрация липополисахарида составляла 30 мкг/кг. Четвертая, пятая и шестая группы получали препарат в объеме 5 мл с концентрацией вспомогательного компонента 10, 20 и 30 мкг/кг соответственно. Седьмая группа была контрольной, препарат телятам не вводили, они получали сим-

птоматическое лечение. Всем животным опытных групп препарат вводили в течение 5 суток. Наблюдение за животными осуществляли в течение 21 суток. Эффективность препарата оценивали по общему состоянию здоровья телят, поедаемости корма, лизоцимной активности сыворотки крови, бактерицидной активности сыворотки крови, фагоцитарному показателю, количеству Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов.

У всех животных отбирали образцы крови до применения препарата, а также через 14 и 21 день после применения препарата.

Терапевтическую эффективность препарата оценивали в опыте, схема которого описана выше.

Для оценки профилактической эффективности препарата исследования проводили на здоровых телятах. Было сформировано 3 группы животных по 10–12 голов в каждой. Животным 1-й опытной группы вводили интратрахеально клебсиелловый бактериофаг в объеме 5 мл с титром $3,5 \times 10^5$ БОЕ/мл и вспомогательный компонент липополисахарид в концентрации 30 мкг/мл в течение 3–5 суток, 2-й опытной группе – интратрахеально клебсиелловый бактериофаг в объеме 2 мл с титром $3,5 \times 10^5$ БОЕ/мл и липополисахарид в концентрации 10 мкг/мл в течение 3–5 суток, животные 3-й группы (контрольной) обрабатывались изотоническим раствором хлорида натрия.

Для изучения влияния комплексного препарата в дозе 2 мл клебсиеллового бактериофага интратрахеально с титром $3,5 \times 10^5$ БОЕ/мл и вспомогательного компонента в дозе 10 мкг/кг на обменные процессы и иммунитет была сформирована группа телят в количестве 5 голов. У животных отбирали образцы крови до применения препарата и через 21 сутки после применения.

Одну часть крови стабилизировали гепарином для определения количества Т- и В-лимфоцитов, вторую часть использовали для получения сыворотки крови. В сыворотке крови определяли бактерицид-

ную, лизоцимную активность, фагоцитарную активность лейкоцитов, биохимические и гематологические показатели крови.

Содержание Т- и В-лимфоцитов определяли методом розеткообразования со стабилизированными эритроцитами барана и мыши по Д.К. Новикову и В.И. Новиковой (1979), бактерицидную активность сыворотки крови – по О.В. Смирновой и Т.Н. Кузьминой (1966), лизоцимную активность сыворотки крови – по В.Г. Дорофейчуку (1968), фагоцитарную активность лейкоцитов – по Д.К. Новикову и В.И. Новиковой (1979).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для обработки оптимальных терапевтических доз комплексного препарата «Респифаг» на основе клебсиеллового бактериофага и вспомогательного компонента иммуностимулятора в виде липополисахарида были сформированы по принципу аналогов 7 групп телят, которым вводили препарат, содержащий разное количество бактериофага и липополисахарида. Влияние данного препарата на животных определяли по показателям лизоцимной, бактерицидной активности крови, фагоцитарному показателю. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Показатели лизоцимной, бактерицидной активности крови, фагоцитарного показателя телят, получавших препарат «Респифаг»

Срок отбора крови	Группы телят	Лизоцимная активность сыворотки крови, %	Бактерицидная активность сыворотки крови, %	Фагоцитарный показатель, %
До введения	ОГ 1	8,34±0,44	32,82±0,51	29,6±2,01
	ОГ 2	7,56±1,00	30,43±0,08	23,2±1,53
	ОГ 3	7,81±0,89	33,32±0,56	21,4±0,50
	ОГ 4	8,76±0,76	33,3±0,64	30,6±3,42
	ОГ 5	5,95±0,41	32,85±1,16	24,8±1,59
	ОГ 6	6,89±0,89	33,32±1,61	24,6±1,80
	контрольная	10,25±0,94	33,91±0,64	25,6±1,25
Через 14 дней после введения	ОГ 1	13,12±1,24	41,92±2,21	32,2±0,80
	ОГ 2	11,17±0,31	31,77±0,8	32,8±0,58
	ОГ 3	8,54±0,39	28,3±2,95	29±1,34
	ОГ 4	12,31±0,59	29,02±2,51	32,2±1,01
	ОГ 5	13,82±0,71	41,51±3,5	32,4±1,43
	ОГ 6	10,92±0,77	40,76±2,25	31±1,92
	контрольная	9,68±0,20	30,81±1,45	25,4±1,89
Через 21 день после введения	ОГ 1	13,07±1,20	41,28±2,71	40±3,35
	ОГ 2	11,46±0,99	34,79±2,07	27,4±2,01
	ОГ 3	8,71±0,4	32,47±3,7	35,4±5,53
	ОГ 4	12,38±0,54	35,72±3,73	35,2±5,65
	ОГ 5	11,27±0,69	39,0±4,02	39,4±3,0
	ОГ 6	11,14±0,63	34,39±0,71	43±4,3
	контрольная	9,93±0,19	29,65±1,46	31,8±3,41

Как видно из таблицы 1, у животных первой группы, получавших препарат в объеме 2 мл, содержащий клебсиелловый бактериофаг с титром $3,5 \times 10^5$ БОЕ/мл и 10 мг/кг иммуностимулятора, показатели лизоцимной и бактерицидной активности кро-

ви выше на 21-е сутки после его введения по сравнению с животными других групп (13,07 и 41,27 соответственно), фагоцитарный показатель достигал величины 40 %, что свидетельствует об иммуностимулирующей активности препарата.

В таблице 2 представлены результаты содержания Т- и В-лимфоцитов в крови подопытных животных.

Таблица 2. – Влияние комплексного препарата на формирование Т- и В-лимфоцитов

Срок отбора крови	Группы телят	Т-лимфоциты, %	В-лимфоциты, %
До введения	ОГ 1	24,8±1,02	14,4±0,75
	ОГ 2	25,6±0,98	17±1,48
	ОГ 3	23±1,58	15,4±2,29
	ОГ 4	22,8±2,03	16,6±0,67
	ОГ 5	24,6±2,08	14,8±0,58
	ОГ 6	25,6±2,61	14,8±0,8
	контрольная	23,4±0,68	15±0,45
Через 21 день после введения	ОГ 1	30,4±2,16	24,6±2,38
	ОГ 2	29,6±2,56	24,4±0,98
	ОГ 3	23,6±1,16	19±2,86
	ОГ 4	30±2,19	27,2±2,87
	ОГ 5	30,2±6,06	25,8±4,74
	ОГ 6	20±1,67	22,6±2,13
	контрольная	22,6±1,12	15,4±0,40

Как видно из таблицы 2, если судить по содержанию Т- и В-лимфоцитов, состояние иммунной системы у животных первой группы более стабильное. Концентрация Т-лимфоцитов составила 30,4 % по сравнению с контрольной группой (22,6 %), а В-лимфоцитов – 24,6 % по сравнению с контролем (15,4 %). Эти показатели были выше, чем у животных других опытных групп. Увеличение объема вводимого препарата не привело к заметному увеличению перечисленных показателей.

Следует заметить, что во всех опытных группах состояние животных было лучше, чем в контрольной группе, хотя этот показатель является субъективным. Признаки респираторной патологии у животных опытных групп исчезли на 10-е сутки, а в контрольной – через 20 дней. Животные опытных групп более охотно поедали корм.

Таким образом, нами установлено, что наиболее эффективным является препарат «Респифаг», вводимый интратрахеально в объеме 2 мл с титром клебсиеллового бактериофага $3,5 \times 10^5$ БОЕ/мл и концентрацией вспомогательного компонента липо-

полисахарида 10 мкг/кг. Увеличение объема вводимого препарата до 5 мл не приводило к заметному улучшению показателей лизоцимной, бактерицидной активности крови телят и фагоцитарного показателя, увеличению содержания Т- и В-лимфоцитов.

При проведении исследований по изучению терапевтической и профилактической эффективности препарата «Респифаг» установлено, что введение препарата приводило к увеличению лизоцимной активности сыворотки крови на 23,3–45,6 %, бактерицидной активности сыворотки крови – на 43,1–58,0 %, фагоцитарного показателя – в 2,3–2,5 раза, количества Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов – на 10–25 %, что свидетельствует о выраженной иммуностимулирующей активности разработанного препарата.

Терапевтическую эффективность препарата ветеринарного «Респифаг» на основе клебсиеллового бактериофага и иммуностимулятора (липолисахарида) при респираторных заболеваниях молодняка крупного рогатого скота оценивали по количеству выздоровевших и повторно забо-

левших животных, срокам лечения, сохранности животных в опытных и контрольных группах.

Результаты применения препарата ветеринарного «Респифаг» с целью изучения лечебного эффекта представлены в таблице 3.

Таблица 3. – Изучение лечебной эффективности препарата ветеринарного «Респифаг» при респираторной патологии телят в ОАО «Агрофирма имени Суворова» Борисовского района Минской области

Показатели	Ед. измерения	Опытная группа	Контрольная группа
Количество животных в группе	голов	15	12
Выздоровело	голов	13	5
	%	86,7	41,7
Длительность лечения	дней	3,3	7
Повторно заболело	голов	2	7
	%	13,3	58,3
Пало и вынужденно убито	голов	0	1
	%	0	8,33

Как видно из таблицы 3, в опытной группе при применении препарата «Респифаг» выздоровело 13 телят, что составляет 86,7 %, в то время как в контрольной – 5 телят (41,7 %). Длительность лечения сократилась на 3,6 дня. После применения ветеринарного препарата в опытной группе повторно заболело 2 теленка (13,3 % животных), а в контрольной – 7 телят (58,3 %). Следует отметить, что в опытной группе

все телята сохранились, в то время как в контрольной 1 теленок погиб.

Показателем профилактической эффективности служила частота заболеваемости молодняка крупного рогатого скота респираторными заболеваниями, сохранность животных.

Результаты применения препарата «Респифаг» в качестве профилактического препарата представлены в таблице 4.

Таблица 4. – Изучение профилактической эффективности препарата ветеринарного «Респифаг» в ОАО «Агрофирма имени Суворова»

Показатели	Ед. измерения	Опытная группа	Контрольная группа
Количество животных в группе	голов	12	10
Заболело	голов	1	6
	%	8,33	60,0
Выздоровело	голов	1	5
	%	8,33	50,0
Пало и вынужденно убито	голов	0	1
	%	0	10,0

Как видно из таблицы 4, в опытной группе из 12 телят заболело только одно животное (8,33 %), а в контрольной группе – 6 телят (60,0 %). В опытной группе заболевший теленок выздоровел после применения препарата, в контрольной группе пало 1 животное (10 %). Таким образом, профилактическая эффективность препара-

та «Респифаг» составляет 91,67 %.

Иммунологическую эффективность препарата и его влияние на обменные процессы животных оценивали по количеству Т- и В-лимфоцитов в крови телят, биохимическим и гематологическим показателям крови.

Результаты изучения влияния препа-

рата на основе клебсиеллового бактериофага и иммуностимулятора в виде полисахаридной фракции, полученной из

штамма бактерий *Bacillus subtilis*, на гематологические показатели организма телят представлены в таблицах 5 и 6.

Таблица 5. – Гематологические показатели крови телят 120-дневного возраста после введения препарата «Респифаг» (n=5)

Схема отбора крови	Эритроциты, $10^{12}/л$	Средний объем эритроцитов (MCV), $мкм^3$	Лейкоциты, $10^9/л$	Тромбоциты, $10^9/л$	СОЭ, мм/ч
До введения препарата	6,98±0,28	37,8±0,29	11,15±0,42	550,2±30,8	0,18±0,05
Через 21 день после введения препарата	7,48±0,64	41,1±0,51	9,5±0,38	668,8±43,5	0,15±0,049

Примечание – $P \leq 0,05$

Проведенный анализ гематологических исследований показал, что введение препарата не вносит каких-либо значительных изменений в состав крови телят 120-дневного возраста. Однако следует заметить, что применение препарата приводит к количественному изменению компонентов крови, а именно, достоверно увеличивается количество эритроцитов с $6,98 \pm 0,28 \times 10^{12}/л$ до $7,48 \pm 0,64 \times 10^{12}/л$, уменьшается количество лейкоцитов с $11,15 \pm 0,42 \times 10^9/л$ до $9,5 \pm 0,38 \times 10^9/л$, что свидетельствует о купировании воспалительного процесса. Тем не

менее, эти показатели остаются в пределах физиологической нормы для телят этой возрастной группы.

Тромбоциты принимают активное участие в свертывании крови и неспецифических защитных реакциях организма. В нашем опыте форменные элементы крови варьируют от $550,2 \pm 30,8 \times 10^9/л$ до $668,8 \pm 43,5 \times 10^9/л$. Скорость оседания эритроцитов в норме для телят 120-дневного возраста составляет 0,1–0,2 мм/ч, в нашем случае этот показатель находится в пределах физиологической нормы.

Таблица 6. – Изучение содержания гемоглобина в эритроцитах крови телят 120-дневного возраста после введения препарата «Респифаг» (n=5)

Схема отбора крови	Гемоглобин, г/л	Гематокрит, %	Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH) ng	Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, г/дл	Цветной показатель
До введения препарата	97,8±6,3	39,3±0,23	12,96±1,06	34,0±2,31	0,98±0,06
Через 21 день после введения препарата	111,0±7,2	40,9±0,39	13,02±1,1	34,0±2,31	1,05±0,07

В нашем эксперименте количество гемоглобина до введения препарата составляло $97,8 \pm 6,3$ г/л и $111,0 \pm 7,2$ г/л после применения препарата. Анализируя полученные результаты, можно сказать о благоприятном влиянии препарата на организм телят.

На содержание гемоглобина в эритроците указывает цветной показатель, норма которого – 0,81–1,08 %. Полученный цифровой материал свидетельствует о том, что насыщение эритроцитов гемоглобином происходило в нормативном диапазоне –

от 0,98 до 1,05. О нормальном функционировании эритроцитов говорит их объем. Удельный вес форменных элементов крови в общем объеме, главным образом эритроцитов, отражает гематокрит. В нашем опыте по мере увеличения эритроцитарной

массы в крови гематокрит возрастает с 39,3 % до 40,9 %, что отражает эффективность примененного препарата.

Результаты изучения показателей минерального обмена телят до и после введения препарата представлены в таблице 8.

Таблица 7. – Результаты изучения показателей минерального обмена у телят

Схема отбора крови	Са, ммоль/л	Р неорганический, ммоль/л	Магний, ммоль/л	Железо, мкмоль/л
До введения препарата	2,9±0,32	6,0±0,06	1,2±0,03	26,7±3,21
Через 21 день после введения препарата	3,0±0,53	05,97±0,04	1,2±0,03	27,1±2,99

Динамика полученных данных, представленных в таблице 7, свидетельствует о том, что исследуемый образец препарата не оказывает существенного влияния на мине-

ральный обмен животных.

В таблице 8 приведены показатели белкового обмена у телят до и после введения препарата.

Таблица 8. – Состояние белкового обмена у телят после применения препарата «Респифаг» (n=5)

Схема отбора крови	Общий белок, г/л	Альбумины, г/л
До введения препарата	64,2±1,8	32,2±1,3
Через 21 день после введения препарата	66,0±1,5	32,5±1,3

После применения препарата достоверные изменения уровня общего белка и альбумина не наблюдаются.

Для оценки возможного влияния препарата на клетки печени были проведены исследования по определению содержания в сыворотке крови билирубина и холе-

стераина, а также по изучению активности ферментов аланинаминотрансферазы (АлАТ), аспартатаминотрансферазы (АсАТ), гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ), резервной щелочности, креатининкиназы (КК) (таблица 9, 10).

Таблица 9. – Результаты определения биохимических показателей, отражающих функциональное состояние печени телят

Схема отбора крови	АлАТ, Ед/мл	АсАТ, Ед/мл	ГГТ, Ед/мл	Резервная щелочность, %CO ₂
До введения препарата	26,7±1,32	38,8±2,16	1,2±0,03	54,5±3,21
Через 21 день после введения препарата	27,0±1,53	39,0±2,19	1,2±0,03	54,5±3,21

Примечание – P≤0,05

Установлено, что уровень ферментов, характеризующих функциональное состояние печени, не имеет отклонений от нормы

на протяжении всего опыта, изменения их активности в крови животных незначительны.

Таблица 10. – Результаты определения биохимических показателей, отражающих функциональное состояние печени у телят

Схема отбора крови	КК, Ед/л	Холестерин, моль/л
До введения препарата	69,4±3,8	3,06±0,9
Через 21 день после введения препарата	69,8±3,5	2,5±1,03

Примечание – $P \leq 0,05$

По данным таблицы 10, отмечается достоверное уменьшение уровня холестерина с 3,06 моль/л до 2,5 моль/л. Уровень креатининкиназы остается в пределах физиологической нормы. В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что испытуемый препарат не оказывает повреждающего действия на печень, не нарушает ее функций и не приводит к холестазу.

ВЫВОДЫ

1. Отработаны наиболее оптимальные терапевтические дозы препарата «Респифаг». Препарат вводят телятам интратрахеально в объеме 2 мл с титром клебсиеллового бактериофага $3,5 \times 10^5$ БОЕ/мл и концентрацией вспомогательного компонента

липополисахарида 10 мкг/кг.

2. Терапевтическая эффективность препарата «Респифаг» составляет 86,7 %. В опытной группе при применении препарата «Респифаг» выздоровело 13 телят, а в контрольной – 5 телят (41,7 %). Длительность лечения сократилась на 3,6 дня.

3. Профилактическая эффективность препарата «Респифаг» составляет 91,67 %. В опытной группе из 12 телят заболело только одно животное (8,33 %), а в контрольной группе – 6 телят (60,0 %).

4. Установлено, что препарат оказывает иммуностимулирующее действие на организм молодняка крупного рогатого скота.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алешкин, А.В. Бактериофаги в инфекционной патологии: прошлое, настоящее и будущее / А.В. Алешкин // *Лекции по исследованию и применению бактериофагов*. – Ульяновск, 2016. – С. 11–51.
2. Каттер, Э. Бактериофаги: биология и применение / Э. Каттер, А.М. Сулаквелидзе; под ред. Э. Каттер. – М.: *Научный мир*, 2012. – С. 159.
3. Определение спектра литической активности бактериофагов методом электрооптического анализа клеточных суспензий / О.И. Гулий [и др.] // *Живые и биокосные системы*. – 2014. – № 9.
4. Митрохина, Е.Н. Биологические свойства бактериофагов *E.coli* № 1487 и *E.coli* № 10005 / Е.Н. Митрохина, С.Н. Золотухин, Д.А. Васильев // *Сб. науч. тр. Межрегион. научно-практ. конф. молодых ученых Приволжского федерального округа*. – Самара, 2005. – С. 194–196.
5. Пожарникова, Е.Н. Выделение и изучение основных биологических свойств бактериофагов *ENTEROBACTER*, конструирование на их основе биопрепарата и разработка параметров практического применения: автореф. ... канд. биол. наук / Е.Н. Пожарникова. – Саратов, 2006.
6. Препарат бактериофага клебсиелл пневмонии: пат. РФ № 1697422 / Г.Г. Боговазова, В.М. Бондаренко, Н.Н. Ворошилова, Г.А. Горбаткова, Т.Б. Казакова. – Опубл. 10.08.2004.
7. Садртдинова, Г.Р. Бактериофаги клебсиелл: их роль и значение // *Материалы IV Международной научно-практической конференции*. – 2014.
8. Тикунова, Н.В. Бактериофаги – враги наших врагов / Н.В. , В.В. Власов // *Наука из первых рук*. – 2013. – № 2(50). – С. 58–69.
9. Adams, M. *Bacteriophages* / M. Adams, A. Medgiz. – 1961. – 521 p.
10. Mc Grath, S. *Bacteriophage: Genetics and Molecular Biology* / S. Mc Grath, D. van Sinderen. – *Horizon Scientific Press*, 2007.

УДК 619:579.842

Новикова О.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент
Ломако Ю.В., кандидат ветеринарных наук, доцент
Бебянко Д.Л., младший научный сотрудник

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

ВЛИЯНИЕ ПРИОБРЕТЕННОЙ *IN VITRO* РЕЗИСТЕНТНОСТИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* К ЦЕФЕПИМУ НА ПАТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА И ЭЛИМИНАЦИЮ БАКТЕРИЙ ФАКТОРАМИ ИММУНИТЕТА

Резюме

Приобретенная *in vitro* резистентность *Klebsiella pneumoniae* к цефепиму изменяет клиренс бактерий гранулоцитами и повышает чувствительность к бактерицидным факторам сыворотки крови морской свинки. Цефепим изменяет поверхностную структуру *K. pneumoniae*, способствуя повышению специфического иммунного ответа у морских свинок. Приобретенная *in vitro* резистентность *K. pneumoniae* к цефепиму неустойчива.

Summary

Acquiring *in vitro* resistance of *K. pneumoniae* to sephelim change granulocyte dependent clearance of bacteria and enhance sensibility to bactericid activity of guinea pig's blood serum. It was shown that sephelim change surface structure of *K. pneumoniae* promote enhance of specific immune response in guinea pig. Acquiring *in vitro* resistance of *K. pneumoniae* to sephelim is unstable.

Поступила в редакцию 16.10.2019 г.

Бактерии рода *Klebsiella* являются условно-патогенными микроорганизмами, однако при нарушении защитных физиологических функций вызывают различные заболевания у человека и животных. В последнее время особое внимание уделяется виду *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) в связи со стремительным увеличением количества штаммов, резистентных к антибиотикам. Формирование резистентности бактериями обусловлено как приобретением новой генетической информации, так и изменением уровня экспрессии собственных генов. Имеются сведения о том, что антибиотикорезистентные штаммы бактерий *K. pneumoniae* являются резервуаром генов резистентности, которые могут передаваться другим грамотрицательным бактериям [1, 2].

Существует прямая корреляция между механизмами антибиотикорезистентности бактерий *K. pneumoniae* и их вирулентностью. Основными факторами вирулентности *K. pneumoniae* являются капсульный полисахарид, О-липополисахарид, адгези-

ны и сидерофоры [3]. Капсульный полисахарид, а также О-липополисахарид определяют характер взаимодействия *K. pneumoniae* с нейтрофилами. В настоящее время сведения о корреляции между генотипом и фенотипом бактериальной клетки немногочисленны, однако выявлена способность вновь выделенных клинических изолятов одной клональной группы бактерий *K. pneumoniae* избегать фагоцитоза нейтрофилами и сохранять жизнеспособность в сыворотке крови. Высоковирулентные штаммы *K. pneumoniae* в отличие от «классических» низковирулентных характеризуются большей резистентностью к фагоцитозу и действию комплемента [4]. Сценарий развития клинической суперинфекции зависит от многих факторов, в том числе от способности бактерий избегать взаимодействия с факторами иммунитета, патогенности и резистентности к антибиотикам [5].

Антибиотик цефепим относится к классу цефалоспоринов IV поколения, обладает бактерицидными свойствами, угне-

тает транспептидазу, нарушает биосинтез мукопептида клеточной стенки микроорганизмов. Цефалоспорины IV поколения устойчивы к различным В-лактамазам микроорганизмов и используются в клинической практике при тяжелом течении бактериальных инфекций.

Целью работы являлось изучить влияние приобретенной *in vitro* резистентности эпизоотического штамма *K. pneumoniae* к цефепиму на патогенные свойства и элиминацию бактерий факторами иммунитета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали эпизоотический патогенный штамм *K. pneumoniae*, выделенный из патологического материала от поросенка.

При постановке биопробы на белых мышках регистрировали 100%-ную гибель животных при внутрибрюшинном введении 0,5 мл взвеси бактерий с концентрацией $1,0 \times 10^9$ микробных тел/1,0 мл.

Для определения чувствительности штамм *K. pneumoniae* к антибиотикам в качестве питательной среды использовали сердечно-мозговой агар (СМА) и диски индикаторные с противомикробными лекарственными средствами (НИЦФ, Россия). На чашку с питательной средой вносили 100 мкл бактериальной взвеси с концентрацией микробных клеток $1,0 \times 10^9$ м.т./1,0 мл, шпателем распределяли по поверхности СМА и выкладывали диски с антибиотиками. После аппликации дисков чашки Петри помещали в термостат и инкубировали при температуре 37 °С в течение 18–24 ч. Результаты учитывали визуально, измеряя диаметр зоны задержки роста микроорганизмов.

Исходный эпизоотический штамм *K. pneumoniae* являлся контролем (№ 1). В работе были использованы два варианта эпизоотического штамма *K. pneumoniae*: штамм *K. pneumoniae*, полученный в результате последовательных шести пассажей на СМА без нанесения диска с цефепимом (вариант № 2), и штамм *K. pneumoniae* с

приобретенной резистентностью к цефепиму (вариант № 3), полученный в результате последовательных шести пассажей на СМА с нанесением в каждом последующем пассаже диска, обработанного цефепимом. Для каждого последующего пассажа бактериологической петлей отбирали бактерии с края зоны задержки роста или отдельные колонии. После 6-го пассажа штамм *K. pneumoniae* (№ 3) приобрел резистентность к антибиотику, поскольку зона задержки роста отсутствовала. Штамм *K. pneumoniae* (№ 2) после 6-го пассажа (без антибиотика) сохранял чувствительность к цефепиму, зона задержки роста составляла 30 мм.

В опытах использовали морских свинок массой 200–250 г.

При изучении чувствительности различных вариантов № 1, № 2 и № 3 штамма *K. pneumoniae* к действию факторов бактерицидной активности сыворотки крови морской свинки в сердечно-мозговой бульон (СМБ) вносили сыворотку крови морской свинки 2,0 % к объему СМБ и 0,1 мл суспензии вариантов № 1, № 2, № 3 штамма *K. pneumoniae* (с концентрацией $1,0 \times 10^9$ м.т./1,0 мл). Смесь инкубировали при 37 °С в течение 3 часов. Измеряли оптическую плотность смеси на спектрофотометре при длине волны 540 нм до инкубации и сразу после ее окончания.

При постановке реакции завершеного фагоцитоза кровь морской свинки стабилизировали гепарином. Тест-микробом служила суточная культура различных вариантов штамма *K. pneumoniae* (№ 1, № 2, № 3) с концентрацией 1×10^9 м.т./1,0 мл. Для определения способности гранулоцитов крови дезинтегрировать микробные клетки изучали степень завершенности фагоцитарного процесса методом Бермана, Славской [1]. Кровь инкубировали с микробной взвесью (№ 1, № 2, № 3) в соотношении, соответственно, 4:1 в течение 45 минут при 37 °С. По истечении этого срока лейкоцитарно-микробную взвесь распределяли в виде двух мазков на поверхности 2 % СМА в чашке Петри. Через 2,5 часа после пребывания в термостате го-

товили препарат-отпечаток с мазков. Мазки фиксировали метанолом и окрашивали по Романовскому-Гимза. Жизнеспособные микробные клетки окрашивались в сине-фиолетовый цвет, а погибшие – в розово-голубой.

При изучении иммуногенных свойств вариантов № 2 и № 3 штамма *K. pneumoniae* морских свинок иммунизировали соответствующими антигенами в смеси с адъювантом Montanide ISA-206 в соотношении 1:1. Антигены получены в результате инактивации бактерий *K. pneumoniae* 0,3%-ным формалином. Образцы антигенов *K. pneumoniae* № 2 и № 3 вводили морским свинкам подкожно в область холки в объеме 1,0 мл/гол. ($0,5 \times 10^9$ м.т./гол.). Через 21 сутки после иммунизации у морских свинок отбирали кровь и определяли в ИФА уровень антител к водорастворимым антигенам *K. pneumoniae*. Образец антигена для

сенсibilизации планшета получен в результате обработки ультразвуком бактериальных клеток *K. pneumoniae* (КМИЭВ-В132), для сенсibilизации планшета в лунки вносили антиген с содержанием белка 1,0 мкг/лунка. Сыворотку крови морских свинок для постановки реакции использовали в разведении 1:100. Осуществляли постановку непрямого варианта ИФА.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью критерия t-Стьюдента для независимых выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение чувствительности вариантов № 1, № 2, № 3 штамма *K. pneumoniae* к антибиотикам разных групп представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Определение чувствительности различных вариантов эпизоотического штамма *K. pneumoniae* к антибиотикам

Наименование антибиотика	Вариант штамма <i>K. pneumoniae</i>		
	№ 1	№ 2	№ 3
	зона задержки роста, мм		
Ампициллин	11	10	0
Левифлоксацин	8	8	8
Амикацин	14	15	15
Цефазолин	15	13	0
Цефтриаксон	15	14	13
Цефепим	22	30	0
Тетрациклин	15	15	14
Гентамицин	21	20	18
Имипенем	23	20	22

Как видно из представленных в таблице данных, в результате приобретенной *in vitro* резистентности к цефепиму штамм *K. pneumoniae* (вариант № 3) остается чувствительной к антибиотикам других групп.

При изучении действия бактерицид-

ных факторов сыворотки крови морской свинки на варианты № 1, № 2 и № 3 штамма *K. pneumoniae* выявлена повышенная чувствительность у бактерий варианта № 3 *K. pneumoniae* (таблица 2).

Таблица 2. – Чувствительность *K. pneumoniae* (№ 1, № 2, № 3) к действию факторов бактерицидной активности сыворотки крови ($M \pm m$)

Вариант <i>K. pneumoniae</i>	Показание оптической плотности при 540 нм	
	старт	после 3-часовой инкубации
№ 1	0,12±0,03	0,46±0,05
№ 2	0,13±0,02	0,41±0,03
№ 3	0,13±0,04	0,29±0,04*

Примечание – *достоверное различие по сравнению с вариантами № 1 и № 2 при $P \geq 0,01$

Изучение степени патогенности вариантов № 1, № 2 и № 3 *K. pneumoniae* осуществляли с помощью постановки реакции завершеного фагоцитоза. В результате исследования были выявлены два типа реакции.

Первый тип реакции для вариантов № 1 и № 2 *K. pneumoniae* характеризовался явлениями незавершеного фагоцитоза с формированием внутриклеточных колоний внутри гранулоцитов. Вне гранулоцитов

также отмечали интенсивное разрастание палочек (рисунок 1).

Второй тип реакции для варианта № 3 *K. pneumoniae* выявил резко выраженную картину завершеного фагоцитоза. Внутри гранулоцитов отмечали, как правило, дезинтегрированные либо единичные неразвивающиеся палочки. Вне гранулоцитов микробов нет либо их отмечали в единичных полях зрения (рисунок 2).

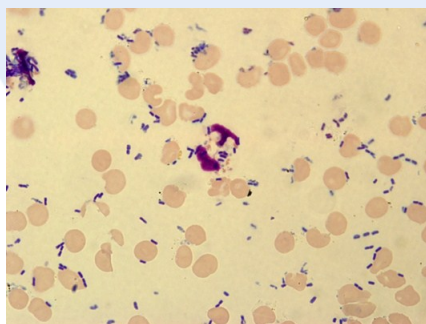


Рисунок 1. – Препарат-отпечаток с СМА (вариант № 2 *K. pneumoniae*) через 3 часа подращивания. Разрастание микробов внутри и вне гранулоцитов

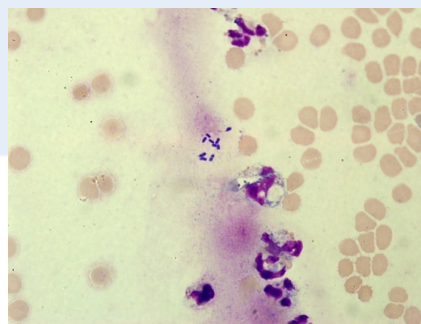


Рисунок 2. – Препарат-отпечаток с СМА (вариант № 3 *K. pneumoniae*) через 3 часа подращивания. Внутри фагоцитов – тени микробных клеток (завершенный фагоцитоз)

Результаты изучения завершенности фагоцитарного процесса представлены в таблице 3.

Таблица 3. – Изучения завершенности фагоцитарного процесса для вариантов № 1, № 2, № 3 штамма *K. pneumoniae* ($M \pm m$)

Вариант <i>K. pneumoniae</i>	Показатель завершенности, %
№ 1	7,2±0,4
№ 2	7,8±0,6
№ 3	76,3±0,8*

Примечание – *достоверное различие по сравнению с контролем при $P \geq 0,01$

В результате постановки ИФА выявлены достоверные различия в уровне антител к водорастворимым антигенам *K. pneu-*

moniae в группах морских свинок, иммунизированных образцами антигенов № 2 и № 3 (таблица 4).

Таблица 4. – Результаты постановки ИФА ($M \pm m$)

Иммунизация образцами антигенов	Уровень антител в сыворотке крови морских свинок через 21 сутки после иммунизации. Значение оптической плотности при длине волны 450 нм
Контроль (перед иммунизацией)	0,104±0,03
№ 2	0,182±0,03
№ 3	0,383±0,04*

Примечание – * достоверное различие по сравнению с контролем и образцом № 2 при $P \geq 0,01$

Таким образом, приобретенная *in vitro* резистентность штамма *K. pneumoniae* (вариант № 3) сопровождалась изменением фенотипа бактериальной клетки, что проявлялось в увеличении уровня специфических антител в крови морских свинок к антигенам *K. pneumoniae*, полученным в результате обработки бактерий ультразвуком.

Для изучения стабильности изменений, связанных с приобретенной *in vitro* резистентностью варианта № 3 штамма *K. pneumoniae* к цефепиму, определяли чувствительность данного варианта к антибиотикам спустя три месяца хранения на СМА при температуре 4–8 °С. В результате определения чувствительности микроорганизмов к цефепиму зона задержки роста составляла 20 мм против 0 мм на старте (резистентный вариант № 3 *K. pneumoniae*). Полученные результаты свидетельствуют о нестабильности изменений поверхностных структур бактерий и их конверсии в исходную форму в процессе хранения на СМА.

ВЫВОДЫ

1. Приобретенная *in vitro* резистентность *K. pneumoniae* к цефепиму практически не изменяет чувствительности бактерий к антибиотикам других групп.

2. Резистентные к цефепиму бактерии *K. pneumoniae* утрачивают невосприимчивость к фагоцитозу и действию факторов бактерицидной активности сыворотки крови.

3. При формировании у бактерий резистентности к цефепиму *in vitro* происходит изменение поверхностных клеточных структур, что проявляется в увеличении уровня специфических антител в крови морских свинок к антигенам *K. pneumoniae*, полученным в результате обработки бактерий ультразвуком.

4. Изменение фенотипа бактериальной клетки при воздействии цефепима *in vitro* носит нестабильный характер и, вероятно, не затрагивает генотипа, поскольку через 3 месяца хранения на СМА происходит восстановление чувствительности бактерий к цефепиму.

ЛИТЕРАТУРА

1. Genomic analysis of diversity, population structure, virulence and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health / K.E. Holt [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2015. – 112E35. – Н. 74–81.
2. Genetic diversity, mobilization and spread of the yersiniabactin-encoding mobile element ICEKp in *Klebsiella pneumoniae* populations / M.C. Lam [et al.] // Microbiol. Genom. – 2018. – V.4: e000196.
3. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and K1/K2 capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae* / F. Compain [et al.] // J Clin Microbiol 2014; V. 52. – 4377–4380.
4. Complement resistance mechanisms of *Klebsiella pneumoniae* / D.J. Doorduyn [et al.] // Immunobiol. – 2016. – V. 221. – 1102–1109. DOI: 10.1016.
5. Bengoechea, J.A. *Klebsiella pneumoniae* infection biology: living to counteract host defences / J.A. Bengoechea, J. Sa Pessoa // FEMS Microbiol Rev. – 2019. – V. 43(2). – 123–144.
6. Берман, В.М. Завершенный фагоцитоз. Сообщение 1. Новый методический принцип изучения завершенной фагоцитарной реакции / В.М. Берман, Е.М. Славская // Ж. микробиологии. – 1958. – № 3. – С. 8–13.

УДК 619:615.37

Струк М.С., старший научный сотрудник

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

ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ТЕЛЯТ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА «ИММУНОНАНОЦИНК» И ЕГО ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Резюме

Приведены результаты влияния наночастиц цинка на основные показатели крови телят до и после их введения. Изучена лечебная, профилактическая и экономическая эффективность препарата «Иммуно-наноцинк».

Summary

The results of the influence of zinc nanoparticles on the main blood parameters of calves before and after their introduction. Studied therapeutic, prophylactic and economic efficiency of the preparation «Immunonanozinc».

Поступила в редакцию 15.11.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в ветеринарной медицине респираторные болезни телят являются основной причиной потерь молодняка крупного рогатого скота. По широте распространения, смертности, вынужденному убою и недополучению привесов заболевания органов дыхания у телят превалируют над всеми остальными болезнями. Они представляют собой группу разнородных патологий, отличающихся множеством причин, включающих широкий спектр различных факторов [1, 2].

В связи с этим разработка новых средств и методов лечения с использованием наночастиц металлов для профилактики и терапии респираторных инфекций телят становится актуальной, как и изучение их воздействия на иммунную систему животных. И в этом отношении перечень проблем, которые могли бы быть решены с помощью нанотехнологий, достаточно широк. Но на сегодняшний день главная проблема в создании антисептических составов на основе цинка состоит в соблюдении баланса между величиной их активности и продолжительностью антисептического действия [3, 4]. Поскольку коллоидные раство-

ры цинка предназначены для введения животным, они должны соответствовать еще ряду требований, главными из которых являются биохимическая совместимость с компонентами крови и размер частиц в диапазоне 50–100 нм, а также устойчивость к коагуляции в плазме крови.

Разработанный нами ветеринарный препарат «Иммунонаноцинк» предназначен для профилактики и терапии респираторных болезней телят. Также показанием к его применению являются заболевания молодняка крупного рогатого скота с угнетенной иммунной системой. Основным действующим компонентом препарата – цинк в количестве 50 мкг/см³, в качестве стабилизирующего вещества используется микрокристаллическая целлюлоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» и животноводческих хозяйств Республики Беларусь были проведены исследования по изучению влияния препарата «Иммунонаноцинк» на гематологические и биохимические показатели крови телят до и после его применения, а также рассчита-

на профилактическая, лечебная и экономическая эффективность применения данного препарата.

Для изучения влияния препарата «Иммунонаноцинк» на гематологические и биохимические показатели крови телят были сформированы 2 группы больных пневмоэнтеритами животных по 10 голов в каждой в возрасте от 35 до 40 дней. Исследования проводили в КСУП ППЗ «Белорусский».

Опытная группа № 1 включала больных телят, которым вводился препарат «Иммунонаноцинк» в дозе 5,0 см³ 1 раз в день в течение 5 дней до выздоровления. Контрольная группа – больные пневмоэнтеритами телята, которые получали химиоте-

рапевтическое и симптоматическое лечение. Забор крови проводили до обработки, через 7 и 14 дней после первого введения препарата. В крови определяли основные биохимические и гематологические показатели на автоматических анализаторах (таблица 1). Определение лечебно-профилактической и экономической эффективности препарата проводились по общепринятым методикам.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В таблице 1 представлена динамика гематологических показателей крови телят до и после применения препарата «Иммунонаноцинк».

Таблица 1. – Динамика гематологических показателей крови у телят до и после применения препарата «Иммунонаноцинк»

Показатели	Группа животных					
	исходные данные		через 7 дней		через 14 дней	
	опытная	контрольная	опытная	контрольная	опытная	контрольная
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	8,16±0,69	8,16±0,69	13,92±0,89	8,16±0,69	11,26±1,05	7,06±1,27
Эритроциты, 10 ¹² /л млн/мкл	12,58±0,17	12,58±0,17	13,02±0,41	12,58±0,17	10,35±2,00	10,63±0,88
Гемоглобин, г/л	108,2±2,92	108,2±2,92	120,4±8,45	108,2±2,92	107±9,86	90,8±9,50
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	959,2±52,57	959,2±52,57	881,8±76,01	959,2±52,57	787±22,77	760,4±140,57
Гематокрит, %	37,38±0,76	37,38±0,76	41,66±2,59	37,38±0,76	33,62±6,24	32,2±3,66
СОЭ, мм/ч	29,76±0,31	29,76±0,31	31,9±1,05	29,76±0,31	33,52±1,79	30,1±1,67
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	8,62±0,15	8,62±0,15	9,2±0,37	8,62±0,15	9,46±4,21	8,54±0,44

Из данных, приведенных в таблице 1, видно колебание гематологических показателей в опытной и контрольной группах на протяжении всего опыта. Проводя сравнительную характеристику содержания лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина, можем увидеть, что пик их повышения пришелся на 7-й день, что говорит о максимальном терапевтическом действии в организме животного. А оценка содержания тромбоцитов свидетельствует о том, что происходит постепенное их понижение при применении препарата «Иммунонаноцинк»: 959,2±52,57 ≥ 881,8±76,01 ≥ 787±22,77. Анализируя данные по уровню гематокри-

та, можем увидеть, что его количество варьирует в рамках физиологических норм для данного вида животных. Это говорит об отсутствии таких побочных действий, как эритроцитоз, гидронефроз почек, дегидратация, лейкозы, анемии. В опытной группе существенных колебаний уровня СОЭ не происходит, что говорит о снижении признаков воспалительного или иного патологического процесса после применения препарата «Иммунонаноцинк» в сравнении с контрольной группой. Также не отмечается существенных колебаний показателя среднего содержания гемоглобина в эритроцитах в опытной и контрольной

группах. Это свидетельствует о том, что препарат «Иммунонаноцинк» не вызывает токсического нарушения ДНК, тем самым не затрагивая значение эритроцитарных индексов. Средняя концентрация гемоглобина в крови остается неизменной, следовательно, красные кровяные тельца насыщены важным хромопротеином, находящимся в постоянном взаимодействии с кислородом и углекислым газом [5].

Данные, приведённые в таблице 2, отражают основные биохимические показатели крови телят до и после применения препарата «Иммунонаноцинк». Изучение

динамики общего белка и альбумина в крови у телят показало, что у животных опытной группы существенных колебаний не происходит, что свидетельствует о снижении отрицательного действия инфекционного процесса в организме, отсутствии вредного воздействия препарата и эффективности терапии. Анализируя концентрации глюкозы и холестерина в крови телят опытной и контрольной групп, видим, что в опытной группе существенных изменений не происходит. Это указывает на то, что препарат не имеет отрицательного воздействия на сердечно-сосудистую систему.

Таблица 2. – Динамика биохимических показателей крови у телят до и после применения препарата «Иммунонаноцинк»

Показатели	Группа животных					
	исходные данные		через 7 дней		через 14 дней	
	опытная	контрольная	опытная	контрольная	опытная	контрольная
Общий белок, г/л	64,22±5,06	64,22±5,06	64,22±5,06	64,67±6,71	71,6±0,88	71,6±64,96
Альбумин, г/л	33,4±0,68	33,4±0,68	33,4±0,68	31,78±2,59	35,68±1,47	31,49±1,4
Глюкоза, ммоль/л	0,67±0,15	0,67±0,15	0,67±0,15	0,5±0,07	1,73±0,35	1,82±0,35
Холестерин, ммоль/л	1,72±0,2	1,72±0,2	1,72±0,2	1,38±0,23	1,8±0,15	1,42±0,15
Мочевина, ммоль/л	6,99±2,06	6,99±2,06	7,11±2,06	7,59±1,15	8,62±0,15	8,54±0,44
Билирубин, мкмоль/л	5,86±0,42	5,86±0,42	5,86±0,42	4,43±0,49	6,99±2,06	5,63±2,4
Креатинин, мкмоль/л	68,87±4,0	68,87±4,0	68,87±4,0	71,37±3,06	77,06±8,83	64,67±6,71
Триглицерид, ммоль/л	0,18±0,04	0,18±0,04	0,18±0,04	1,55±0,07	0,24±0,03	1,47±0,08
АЛАТ, U/L	32,68±2,47	32,68±2,47	32,68±2,47	21,88±1,18	20,94±1,28	21,64±0,89
АСАТ, U/L	145,68±11,0	145,68±11,0	145,68±11,0	109,5±11,1	107,22±13,96	155,28±40,9
Щелочная фосфатаза, U/L	91,8±15,81	91,8±15,81	91,8±15,81	92,75±14,7	96,12±10,12	89,96±18,18
Кальций, моль/л	2,78±0,03	2,78±0,03	2,65±0,13	2,34±0,33	2,93±0,09	2,83±0,03
Фосфор, ммоль/л	2,06±0,21	2,06±0,21	1,96±0,21	1,6±0,16	2,12±0,12	2,58±0,01
Магний, ммоль/л	1,4±0,26	1,4±0,26	1,44±0,16	1,49±13,4	1,66±0,09	1,26±0,18
Железо, ммоль/л	28,56±2,87	28,56±2,87	27,16±2,37	26,08±2,01	25,82±3,37	24,53±5,41

Концентрация мочевины в опытной и контрольной группах остается неизменной, что отражает отсутствие отрицательного воздействия препарата на мочеполовую систему, в частности на функцию почек. Уровень билирубина у животных опытной группы превышает уровень в контрольной группе, что указывает на положительное действие препарата на организм животного, т.к. значение содержания билирубина на нижней границе может свидетельствовать о снижении уровня гемоглобина, из-за чего ткани организма получают недостаточное количество кислорода.

Изучение концентрации креатинина в крови телят показало, что у животных опытной группы этот показатель больше, нежели в контрольной, что указывает на отсутствие патологии в энергетическом обмене мышечной и других тканей.

Колебание концентрации триглицеридов в крови телят показывает, что у животных опытной группы, получавших препарат «Иммунонаноцинк», этот показатель ниже, чем у телят контрольной, что говорит о нормализации липидного обмена организма животного, отсутствии патологических реакций.

Помимо оценки динамики белкового и углеводного обмена, проведен анализ ферментативной активности крови телят после применения препарата «Иммунонаноцинк». Так, активность АЛАТ у телят опытной группы больше, чем в контрольной, что указывает на активизацию функции печени в процессе реконвалесценции. У животных опытной группы активность АСАТ ниже, чем в контрольной, что говорит об отсутствии воспалительной реакции в организме, внутриклеточном синтезе аспартатаминотрансферазы и восстановлении функции печени. Увеличение активности фосфатазы крови к 14-му дню у телят, получавших препарат «Иммунонаноцинк», свидетельствует о нормализации белкового и жирового обмена в организме и отсутствии патологических изменений.

Оценка состояния минерального обмена у телят после применения препарата «Иммунонаноцинк» показала колебание среднего показателя кальция, фосфора, магния и железа. Проводя сравнительную характеристику концентрации кальция, фосфора, магния и железа в крови, видим, что у животных после введения препарата «Иммунонаноцинк» их количество находится практически на одном уровне [6, 7].

Определение лечебно-профилактической и экономической эффективности препарата «Иммунонаноцинк» проводилось в условиях животноводческих хозяйств Республики Беларусь – РСКУП «Волковыское» Волковысского района Гродненской области, ОАО «Будславское» Мядельского района Минской области и СХФ «Ханчицы» ОАО ГТФ «Неман» Свислочского района Гродненской области.

Для расчета лечебной эффективности в хозяйствах по принципу аналогов были сформированы 2 группы больных телят по 30 голов в возрасте от 15 дней до 3 месяцев. Больным телятам опытной группы препарат «Иммунонаноцинк» вводили внутримышечно в дозе 5 мл один раз в день от 3 до 5 раз до выздоровления. Препарат применялся в комплексе с симптоматическими и антибактериальными средствами. Телята контрольной группы были подвергнуты лечению по схеме, принятой в хозяйствах. Для изучения профилактической эффективности препарата в хозяйствах по принципу аналогов также формировались по 2 группы здоровых телят по 25 голов в возрасте от 15 дней до 3 месяцев. Здоровым телятам опытной группы препарат «Иммунонаноцинк» вводили внутримышечно в дозе 5 мл один раз в день 2-3 раза. Телята контрольной группы были подвергнуты профилактическим обработкам по схеме, принятой в хозяйствах. Результаты применения препарата представлены в таблицах 3 и 4.

В таблице 4 приведены результаты изучения профилактической эффективности препарата «Иммунонаноцинк».

Таблица 3. – Результаты изучения лечебной эффективности препарата «Иммунонаноцинк»

Наименование показателей	Единицы измерения	Группа животных					
		РСКУП «Волковысское»		СХФ «Ханчицы» ОАО ГТФ «Неман»		ОАО «Будславское»	
		опытная	контрольная	опытная	контрольная	опытная	контрольная
Количество животных в группе	гол.	30	30	25	25	30	30
Выздоровело	гол.	27	18	23	18	26	20
	%	90	60	92	72	86,7	66,7
Длительность лечения	дн.	3,0	7,1	3,6	7,5	3,3	7,4
Повторно заболело	гол.	3	12	2	7	4	10
	%	10	40	8	28	13,3	33,3
Пало и вынуждено убито	гол.	0	0	0	0	0	0
	%	0	0	0	0	0	0

Таблица 4. – Результаты изучения профилактической эффективности препарата «Иммунонаноцинк»

Наименование показателей	Единицы измерения	Группа животных					
		РСКУП «Волковысское»		СХФ «Ханчицы» ОАО ГТФ «Неман»		ОАО «Будславское»	
		опытная	контроль-ная	опытная	контроль-ная	опытная	контроль-ная
Количество животных в группе	гол.	25	25	20	20	25	25
Заболело	гол.	3	14	3	11	4	16
	%	12	56	15	55	16	64
Выздоровело	гол.	3	14	3	11	3	10
	%	12	56	15	55	12	40
Пало и вынуждено убито	гол.	0	0	0	0	1	5
	%	0	0	0	0	4	20

Учет эффективности применяемого препарата осуществлялся по количеству выздоровевших животных, кратности применения, приросту живой массы у животных опытных и контрольных групп [8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования по изучению динамики гематологических и биохимических показателей крови телят до и после введения препарата «Иммунонаноцинк» говорят о нормализации последствий инфекционного процесса в организме, без-

вредности препарата и эффективности проводимой терапии, а также о положительном влиянии на организм в целом. Данный препарат может быть использован для профилактики и терапии респираторных болезней телят. Использование его в условиях производства показало 84–88%-ную профилактическую и 86,2–92%-ную лечебную эффективность, а экономическая эффективность от проведения лечебных мероприятий составила от 2,83 до 5,61 рублей на рубль затрат.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глуценко, Н.Н. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов: автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Н.Н. Глуценко. – 1988. – М. – 50 с.
2. Глуценко, Н.Н. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов / Н.Н. Глуценко, О.А. Богословская, И.П. Ольховская // Химическая физика. – 2002. – Т. 21, № 4. – С. 79–85.
3. Хлебникова, А.Н. Цинк, его биологическая роль и применение в дерматологии / А.Н. Хлебникова, Д.Д. Петрунин // Вестник дерматологии и венерологии. – 2013 – № 6. – С. 100–116.
4. Попович, Ю.Г. Физиологическая роль цинка / Ю.Г. Попович // Педиатрия и детская хирургия. – 2011. – № 1. – С. 37–40.
5. Симонян, Г.А. Ветеринарная гематология / Г.А. Симонян, Ф.Ф. Хисамутдинов; под ред. Симоняна Г.А. – Казань: Халкыбыз мирасы, 2017. – 239 с.
6. Громыко, Е.В. Оценка состояния коров методами биохимии / Е.В. Громыко // Экологический вестник Северного Кавказа. – 2005. – № 2. – С. 80–94.
7. Васильева, С.В. Клиническая биохимия крупного рогатого скота: учеб. пособие / С.В. Васильева. – СПб.: Лань, 2017. – 188 с.
8. Методика определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий / сост. Н.С. Безбородкин: утв. Гл. упр. ветеринарии М-ва с.х. и прод. Респ. Беларусь 10 мая 2000 г. – Витебск, 2000. – 13 с.

Вакцина «РЕСПИВАК»

ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

WWW.BIEVM.BY



- ▶ вызывает выработку специфических антител у крупного рогатого скота к *Pasteurella multocida* серовариантов А, В и *Mannheimia haemolytica*;
- ▶ вводится внутримышечно;
- ▶ вакцинацию коров (тёлок) проводят независимо от срока стельности в дозе 2,0 см³;
- ▶ телок начинают вакцинировать с 15–16-месячного возраста;
- ▶ телят вакцинируют с 5–10-дневного возраста в дозе 1,0 см³

УДК 619:615.37

Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Зуйкевич Т.А., кандидат сельскохозяйственных наук¹
Красочко П.А., доктор ветеринарных и биологических наук, профессор²
Морозов А.М., младший научный сотрудник¹
Толяронок Г.Е., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Ястребов А.С., доктор ветеринарных наук, доцент¹

¹РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского», г. Минск

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

КОМПЛЕКСНЫЙ ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩИЙ ПРЕПАРАТ НА ОСНОВЕ ДВУСПИРАЛЬНОЙ РНК (ДСРНК) И ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ТЕРАПИИ ПНЕВМОЭНТЕРИТОВ ТЕЛЯТ

Резюме

Применение комплексного иммуностимулирующего препарата «Нуклеозан» при пневмоэнтеритах телят позволяет снизить длительность лечения на 4,3 дня, уменьшить количество повторно заболевших телят на 22,8 %, а также повысить эффективность вакцинаций. Установлено, что компонент препарата поливинилпирролидон совместно с дсРНК обладает выраженным пролонгированным действием – продлевает выработку интерферона до 72 часов.

Summary

The use of the complex immunostimulating drug «Nucleosan» in calves with pneumoenteritis can reduce the duration of treatment by 4,3 days, reduce the number of calves re-diseased by 22,8 %, and also increase the effectiveness of vaccinations. It was found that the component of the polyvinylpyrrolidone preparation together with dsRNA has a pronounced prolonged effect – it prolongs the production of interferon up to 72 hours.

Поступила в редакцию 24.10.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания органов дыхания и пищеварения сельскохозяйственных животных (пневмоэнтериты) остаются актуальной проблемой в хозяйствах Республики Беларусь и наносят существенный экономический ущерб. Возбудителями их являются вирусы и бактерии. Чаще всего в хозяйствах регистрируются ассоциированные пневмоэнтериты молодняка сельскохозяйственных животных. Стресс-факторами, способствующими их возникновению, являются различные нарушения условий и технологии содержания и кормления животных, использование неполноценных кормов, нарушения требований, предъявляемых к микроклимату в помещениях для содержания молодняка сельскохозяйственных животных.

Для лечения заболеваний органов ды-

хания и пищеварения у молодняка домашних животных в хозяйствах широко применяются антибиотики, которые дают определенный эффект. Однако при бессистемном их применении появляются микроорганизмы, устойчивые к антибиотикам. В связи с этим требуется поиск новых препаратов, позволяющих решать проблему пневмоэнтеритов.

В последнее время все чаще применяются препараты интерферона и индукторов интерферона. Одним из таких препаратов является двуспиральная РНК (дсРНК), обладающая антивирусным и иммуностимулирующим действием [2, 3, 4].

Нами была поставлена цель разработать технологию изготовления комплексного иммуностимулирующего препарата на основе индуктора интерферона и липополисахаридов (ЛПС) бактерий для терапии и

профилактики ассоциированных пневмоэнтеритов молодняка сельскохозяйственных животных и повышения эффективности вакцинаций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» в 2015–2018 гг. проводились исследования по разработке комплексного иммуностимулирующего препарата на основе дсРНК и липополисахаридов бактерий. Двуспиральную РНК получали из хлебопекарных дрожжей по методике, предложенной Лебедевым Л.Р., Аликиным Ю.С. с соавторами в 2014 г. [1]. Методика получения препарата включала несколько стадий: разрушение клеточных стенок дрожжей додецилсульфатом натрия и хлороформом, экстракция дсРНК, концентрирование в растворе полиэтиленгликоля, фракционирование в растворах хлористого лития и осаждение этанолом.

Наличие дсРНК в образцах препарата определяли методом горизонтального электрофореза в агаровом геле.

Липополисахариды получали методом щелочного гидролиза *Bac. licheniformis* 1%-ным раствором гидроксида натрия. Бактериальную массу кипятили при 100 °С в течение 50–60 мин.

После остывания гидролизат бактерий центрифугировали при 5300 об/мин в течение 10 мин, осадок удаляли, надосадочную жидкость пропускали через фильтр с размерами пор 450 мкм, довели рН до 4,5–5,0 10%-ным раствором соляной кислоты. О концентрации ЛПС судили по показателю количества сухого вещества в препарате. Концентрацию ЛПС довели с помощью стерильного физиологического раствора до показателя 500 мкг/см³.

Интерферон-индуцирующую активность препарата «Нуклеозан» изучали в опыте на 30 белых мышах живой массой 18,0–20,0 г, которых разделили на 5 групп (4 опытных и 1 контрольная) по 6 мышей каждой. Препарат вводили однократно внутривентриально в дозе 0,5 см³. Животным 1-й группы вводили дсРНК, 2-й –

дсРНК+ПВП, 3-й группы – дсРНК+ПВП+ЛПС, 4-й группы – липополисахариды *Bac. licheniformis*. Через 24, 48 и 72 часа после введения препарата у мышей брали пробы крови, получали из нее плазму и определяли уровень (титр) интерферона. Использовали культуру клеток СПЭВ и вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГС). Уровень интерферона в плазме крови мышей определяли по наличию или отсутствию цитопатогенного действия вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней с учетом того, что интерферон подавляет вирус ТГС.

Изготовление препарата «Нуклеозан» проводили путем смешивания 100,0 см³ дсРНК с содержанием 2 мг/мл, 100,0 см³ препарата бактериальных липополисахаридов в концентрации 500 мкг/см³ и 7,0 см³ 15%-ного поливинилпирролидона (ПВП). Компоненты препарата смешивали, фасовали во флаконы.

Препарат «Нуклеозан» при введении животным индуцирует образование интерферона, который проявляет противовирусную активность. Механизм действия препарата заключается в том, что интерферон не проникает в клетку, но, контактируя с ней через рецепторы, подавляет репродукцию вируса в клетке. Липополисахариды бактерий проявляют иммуностимулирующую активность, компонент препарата поливинилпирролидон обладает пролонгирующим действием, продлевая срок действия интерферона до 72 часов.

Терапевтическую эффективность препарата «Нуклеозан» изучили на телятах в одном из хозяйств Минской области, неблагополучном по заболеваниям органов дыхания и пищеварения. Телятам в количестве 20 голов вводили внутримышечно трехкратно с интервалом в 2 дня препарат в дозе по 20,0 см³. Телят контрольной группы (18 голов) лечили по схеме, принятой в хозяйстве.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследования интерферон-индуцирующей активности препарата «Нуклеозан» приведены в таблице 1.

Таблица 1. – Титры интерферона в плазме крови мышей, обработанных препаратом «Нуклеозан»

№ группы	Препарат	Титры интерферона через		
		24 часа	48 часов	72 часа
1	дсРНК	1:16,6	1:5,4	0
2	дсРНК+ПВП	1:66	1:22,4	1:3,5
3	дсРНК+ПВП+ЛПС	1:56,2	1:35,6	1:4,2
4	ЛПС	0	0	0
5	Контроль (физраствор)	0	0	0

Данные таблицы 1 свидетельствуют о том, что препарат «Нуклеозан» обладает антивирусным действием (по отношению к вирусу ТГС). Через 48 часов после введения монопрепарата дсРНК титр интерферона составлял 1:5,4, через 48 часов после введения препарата «Нуклеозан» – 1:35,6, через 72 часа – 1:4,2, значит, действие препарата продлевалось до 72 часов.

Результаты по изучению терапевтической эффективности разработанного препарата представлены в таблице 2. Дан-

ные таблицы свидетельствуют о том, что комплексный иммуностимулирующий препарат на основе дсРНК, липополисахаридов бактерий и пролонгатора поливинилпирролидона «Нуклеозан» обладает терапевтической эффективностью при пневмоэнтеритах телят. Его применение позволяет снизить длительность лечения больных животных на 4,3 дня, уменьшить количество повторно заболевших телят на 22,8 % и повысить среднесуточный привес живой массы на 139 г.

Таблица 2. – Эффективность применения комплексного иммуностимулирующего препарата «Нуклеозан»

Показатели эффективности препарата	Ед. измерения	Группы животных	
		опытная	контрольная
Количество телят в группе	голов	20	18
Выздоровело	голов/%	18/90	11/61,1
Длительность лечения	дней	2,4	6,7
Повторно заболело	голов/%	1/5	5/27,8
Пало и вынужденно убито	голов/%	0/0	0/0
Среднесуточный привес живой массы телят	г	712	573

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные экспериментальные данные по увеличению интерферон-индуцирующей активности комплексного иммуностимулирующего препарата на основе дсРНК «Нуклеозан» свидетельствуют о том, что компонент препарата ПВП совместно с дсРНК обладает выраженным

продолжительным действием: продлевает выработку интерферона до 72 часов (срок наблюдения).

Установлено, что при введении разработанного препарата телятам терапевтическая эффективность его применения составляет 90 %, что на 28,9 % выше в сравнении с контрольной группой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Выделение и очистка двуструнной РНК из киллерного штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / Л.Р. Лебедев [и др.] // *Технология производства препаратов. Биофармацевтический журнал.* – 2014. – Т. 6. – № 6. – С. 37–43.
2. Бояринцев, Л.Е. Разработка и применение препаратов интерферона и биологически активных добавок в ветеринарии: дисс. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.01, 16.00.03 / Л.Е. Бояринцев. – Воронеж, 2003. – 341 л.
3. Сравнительное изучение специфических препаратов на основе дсРНК / Ю.С. Аликин [и др.] // *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Овчинникова Ю.А.* – 2006. – № 3. – С. 21–28.
4. Лукьянова, И.А. Применение вестина и провеста для профилактики вирусных респираторных инфекций телят / И.А. Лукьянова, В.И. Плешакова // *Ветеринария Кубани.* – № 4. – 2012. – С. 7–9.

УДК 619:615.37

Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Зуйкевич Т.А., кандидат сельскохозяйственных наук¹
Красочко П.А., доктор ветеринарных и биологических наук, профессор²
Морозов А.М., младший научный сотрудник¹
Толяронок Г.Е., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Ястребов А.С., доктор ветеринарных наук, доцент¹

¹РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

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

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПЛЕКСНОГО ИММУНОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА «НУКЛЕОЗАН» НА ОСНОВЕ НУКЛЕИНАТА НАТРИЯ И ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ

Резюме

В статье изложены результаты разработки и испытаний комплексного иммуностимулирующего препарата «Нуклеозан». Основными компонентами препарата являются нуклеинат натрия и липополисахариды. Для пролонгации препарата использован поливинилпирролидон. Оптимальная доза изготовленного препарата «Нуклеозан» для молодняка крупного рогатого скота составляет 2,0 см³. Установлено также, что препарат «Нуклеозан» при совместном использовании с вакциной стимулирует иммуногенез у животных.

Summary

The article presents the results of the development and testing of the complex immunostimulating drug «Nucleosan». The main components of the preparation are: sodium nucleinate, lipopolysaccharides. To prolong the drug used polyvinylpyrrolidone. The optimal dose of the manufactured drug «Nucleosan» for young cattle is 2,0 cm³. It was also found that the drug «Nucleosan» when used together with the vaccine stimulates immunogenesis in animals.

Поступила в редакцию 24.10.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной проблемой молодняка сельскохозяйственных животных (телят, поросят) в хозяйствах Беларуси являются болезни органов дыхания и пищеварения (пневмоэнтериты). Причины их возникновения разнообразны и чаще всего связаны с нарушением технологии содержания и кормления животных [2, 10].

Для их лечения в ветеринарной практике широко применяются антибиотики и другие препараты. В последние годы появились работы, в которых отмечается возникновение микроорганизмов, устойчивых к некоторым антибиотическим препаратам. Все это снижает эффективность антибиотикотерапии при заболеваниях органов дыхания и пищеварения у молодняка сельскохозяйственных животных. В связи с

этим ведется научный поиск по получению препаратов, обладающих противовирусным и иммуностимулирующим действием [9].

В медицине и ветеринарии применяется интерферон, который подавляет репродукцию вирусов. Однако он быстро выводится из организма (в течение 12–24 часов после введения), поэтому требуются повторные введения. При этом установлено, что при его повторном применении у животных образуются антитела, которые снижают его эффективность [11, 12].

Таким образом, возникает необходимость в изыскании новых, эффективных препаратов, позволяющих сократить заболеваемость и отход молодняка сельскохозяйственных животных от этих заболеваний.

Цель работы – разработать техно-

логию изготовления комплексного иммуностимулирующего препарата на основе индуктора интерферона и липополисахаридов бактерий для терапии и профилактики ассоциированных пневмоэнтеритов молодняка сельскохозяйственных животных и повышения эффективности вакцинаций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2016–2018 гг. нами проведен скрининг препаратов, обладающих био- и иммуностимулирующими свойствами. Среди них препарат «Иммунат» производства ООО НПЦ «БелАгроГен», г. Горки Могилевской области, бактериальные липополисахариды, наночастицы цинка, янтарная кислота [3–6, 8].

При проведении скрининга препаратов оценивали показатели неспецифической резистентности организма (бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови, фагоцитарную активность лейкоцитов), показатели иммунологической эффективности (количество Т- и В-лимфоцитов в крови животных). С этой целью проведен опыт на 24 кроликах живой массой 2,5–3,0 кг, которых разделили на 8 групп (по 3 головы в группе). Препараты вводили животным внутримышечно в дозе 1,0 см³ трехкратно с интервалом в 3 дня. Кроликам 1-й группы вводили препарат «Иммунат», 2-й – бактериальные липополисахариды в концентрации 500 мкг/см³, 3-й – наночастицы цинка в концентрации 0,01 мг/см³, 4-й – янтарную кислоту в концентрации 1,0 мг/см³, 5-й – смесь препарата «Иммунат» с липополисахаридами в соотношении 1:1, 6-й – смесь препарата «Иммунат» с наночастицами цинка в соотношении 1:1, 7-й – смесь препарата «Иммунат» с янтарной кислотой в соотношении 1:1, 8-й – стерильный физиологический раствор в объеме 1,0 см³ (контроль).

До введения препарата и через 10 суток после трехкратного внутримышечного введения у животных отбирали пробы крови. Часть крови стабилизировали гепарином, остальную использовали для получения сыворотки.

Бактерицидную активность сыворотки

крови (БАСК) определяли по методике, предложенной в 1979 г. Смирновой С.В. и Кузьминой Т.А., лизоцимную активность (ЛАСК) – по Дорофейчику В.Г. (1966 г.), фагоцитарную активность лейкоцитов (ФАЛ) с использованием тест-культуры *E. coli*, количество Т- и В-лимфоцитов в реакции розеткообразования по Новикову Д.К. и Новиковой В.И. (1979 г.).

Для изготовления комплексного иммуностимулирующего препарата «Нуклеозан» в качестве основного компонента использовали нуклеинат натрия, который получали из пивных дрожжей по методике, предложенной Лебедевым Л.Р. в соавторстве [1]. Липополисахариды получали методом щелочного гидролиза *Bac. licheniformis*. Содержание дсРНК в нуклеинате натрия составляло 2 мг/мл, липополисахаридов – 500 мкг/см³. Соотношение нуклеината натрия и липополисахаридов бактерий в препарате составляло 1:1. Для пролонгации препарата использовали поливинилпирролидон (ПВП) в объеме 3–3,5 % на 100 см³.

Определяли оптимальную дозу препарата для молодняка крупного рогатого скота. Для этой цели в одном из хозяйств Минской области провели опыт на телятах в возрасте 1-1,5 месяцев с клиническими признаками поражения органов дыхания и пищеварения. Были сформированы 3 опытные и одна контрольная группы животных (по 5 телят в группе). Препарат вводили животным внутримышечно трехкратно с интервалом в 2 дня: телятам 1-й группы – по 1,0 см³, 2-й – по 2,0 см³, 3-й – по 3,0 см³. Телят контрольной группы лечили по схеме, принятой в хозяйстве. Через 14 суток после введения различных доз препарата отбирали пробы крови и определяли показатели неспецифической резистентности организма животных (лизоцимная и бактерицидная активность сыворотки крови, фагоцитарная активность лейкоцитов) и показатели клеточного иммунитета (количество Т- и В-лимфоцитов).

Принимая во внимание литературные данные [7] о влиянии препаратов дсРНК на иммуногенез у вакцинированных живот-

ных, провели опыт на стельных коровах, которых иммунизировали против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, рота- и коронавирусной инфекции вакциной «Тетравак». Коровам опытной группы (5 голов) вводили вакцину «Тетравак» и одновременно препарат «Нуклеозан» в дозе 6,0–8,0 см³. Животных контрольной группы (5 коров) прививали вакциной «Тетравак» в соответствии с инструкцией по ее применению. Через 3 недели у жи-

вотных опытной и контрольной групп отбирали пробы крови для исследования в ИФА на специфические антитела в сыворотке крови к вирусу инфекционного ринотрахеита и s/p к вирусу диареи.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований показателей неспецифической резистентности организма кроликов, обработанных препаратами, изложены в таблице 1.

Таблица 1. – Показатели неспецифической резистентности у кроликов, обработанных иммуностимулирующими препаратами

Сроки отбора крови	Группа животных	БАСК, %	ЛАСК, %	ФАЛ, %
До введения	1	15,77±1,13	7,53±0,72*	24,33±1,45
	2	21,07±1,68	7,60±1,76	13,33±2,40
	3	18,53±3,43	7,13±0,63**	27,67±2,60
	4	17,29±0,93	9,70±0,70	25,67±2,72
	5	17,33±0,90	9,60±1,68	24,47±1,36
	6	17,20±1,40	9,20±1,17	22,33±1,16
	7	17,17±2,74	7,23±1,39	21,93±1,28
	контроль	18,48±2,66	10,63±0,64	24,67±1,45
Через 10 суток после введения	1	24,82±1,47	12,03±0,74*	34,33±4,70
	2	23,18±4,20	15,37±4,97	32,67±2,67
	3	29,17±2,74	14,43±0,07*	36,33±4,63
	4	14,76±4,79	9,83±0,58	25,67±1,45
	5	23,70±1,41*	15,93±0,74**	24,00±3,06
	6	24,07±7,53	12,73±0,84**	23,67±2,73
	7	24,57±7,31	17,13±0,62**	34,67±0,67*
	контроль	18,23±6,02	7,23±1,39	28,67±2,91

Примечание – *P≤0,05 по отношению к контрольной группе; **P≤0,01 по отношению к контрольной группе

Данные по оценке показателей иммунологической эффективности (количество Т- и В-лимфоцитов в крови животных) кроликов, обработанных иммуностимулирующими препаратами, приведены в таблице 2.

Полученные данные, изложенные в таблицах 1, 2, свидетельствуют о том, что все испытуемые препараты и их сочетания с препаратом «Иммунат» обладают выраженными иммуностимулирующими свойствами, которые сопровождаются повышением показателей неспецифической резистентности организма животных и иммунологической эффективности. При сочетан-

ном применении препарата «Иммунат» с липополисахаридами бактерий лизоцимная и бактерицидная активность сыворотки крови через 10 дней после их введения повысилась на 6,33 % и 6,37 % соответственно, количество Т- и В-лимфоцитов – на 6,34 % и 10 % соответственно по сравнению с показателями кроликов, которым вводили только препарат «Иммунат». Сочетанное применение препарата «Иммунат» с янтарной кислотой сопровождалось повышением бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови кроликов на 7,4 % и 9,9 %, Т- и В-лимфоцитов – на 8,01% и 13,34% соответственно. При соче-

танном применении препарата «Иммунат» с наночастицами цинка в концентрации 0,01 мг/см³ показатели лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови повышались на 3,53 % и 6,9 %, количество

Т- и В-лимфоцитов – на 14,0 % и 7,0 % соответственно. В дальнейшей экспериментальной работе использовали препарат «Иммунат» в сочетании с липополисахаридами бактерий.

Таблица 2. – Показатели клеточного иммунитета у кроликов, обработанных иммуностимулирующими препаратами

Сроки отбора крови	Группа животных	Т-лимфоциты, %	В-лимфоциты, %
До введения	1	26,67±0,67	17,67±2,40
	2	24,67±0,67	20,67±1,76
	3	26,67±0,67	16,33±1,20
До введения	4	25,00±1,73	16,33±0,33
	5	24,33±1,15	14,33±0,33
	6	22,00±1,15	17,67±1,33
	7	26,67±0,67	14,33±1,20
	8 (контроль)	23,67±1,67	17,67±1,33
Через 10 суток после введения	1	28,33±0,33	18,33±5,81
	2	34,00±2,00*	20,33±0,33
	3	32,00±1,73*	18,67±1,67
	4	24,00±3,06	17,33±1,67
	5	30,67±0,67	24,33±1,20*
	6	34,00±2,08*	24,67±1,33*
	7	34,67±0,67*	27,67±1,33*
	8 (контроль)	24,33±1,15	17,67±7,62

Примечание – *P≤0,05 по отношению к контрольной группе

В результате определения оптимальной дозы препарата для молодняка крупного рогатого скота установили повышение лизоцимной активности сыворотки крови во 2-й опытной группе животных на 21,5 %, бактерицидной активности в 1-й и 2-й опытных группах – на 25,5 % (P≤0,05) и 15,5 % (P≤0,05) соответственно, фагоцитарная активность лейкоцитов во 2-й и 3-й опытных группах – на 23,6 (P≤0,05) и 22,6 % (P≤0,05) соответственно. Установлено увеличение количества Т-лимфоцитов у всех животных опытных групп на 20,3–23,1 % (P≤0,05; P≤0,01), количества В-лимфоцитов – на 13,3–16,7 % (P≤0,05) в крови телят 2-й и 3-й опытных групп.

Полученные данные дают основание утверждать, что препарат «Нуклеозан» обладает иммуностимулирующим действием

и что доза препарата в 2,0 см³ (0,04 см³ на кг ж.м. теленка 1–1,5-месячного возраста) является оптимальной.

В результате проведения экспериментов по определению влияния препаратов дсРНК на иммуногенез у вакцинированных животных установлено достоверное повышение уровня титров антител к вирусу инфекционного ринотрахеита до 87,3 % против 71,4 % в контрольной группе, к вирусу диареи – до показателя s/p 1,18±0,10 против 0,8±0,12 в контрольной группе животных.

Полученные данные опыта на стельных коровах при сочетанном введении им вакцины «Тетравак» и препарата на основе нуклеината натрия и липополисахаридов бактерий «Нуклеозан» свидетельствуют о том, что препарат стимулирует иммуноге-

нез у животных, привитых вакциной «Тетравак» и повышает титры антител к вирусу инфекционного ринотрахеита и диареи крупного рогатого скота.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлено повышение лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови кроликов на 6,33 % и 6,37 %, количества Т- и В-лимфоцитов – на 6,34 % и 10 % при совместном применении препарата «Иммунат» с липополисахаридами бактерий, по сравнению с показателями у кроликов, которым вводили один препарат «Иммунат».

2. Определили оптимальную дозу изготовленного препарата «Нуклеозан» для

молодняка крупного рогатого скота, которая составила 2,0 см³ (0,04 см³ на кг ж.м. теленка 1–1,5-месячного возраста).

3. Установлено, что препарат «Нуклеозан» при совместном использовании с вакциной стимулирует иммуногенез у животных.

4. По результатам исследований разработаны: лабораторный регламент по изготовлению и контролю препарата «Нуклеозан», технические условия на ветеринарный препарат «Нуклеозан» ТУ ВУ 600049853.103-2019 и методические рекомендации по профилактике и терапии пневмоэнтеритов молодняка сельскохозяйственных животных с использованием иммуностимулирующих препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Выделение и очистка двуспиральной РНК из киллерного штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / Л.Р. Лебедев [и др.] // *Технология производства препаратов. Биофармацевтический журнал.* – 2014. – Т. 6. – № 6. – С. 37–43.
2. Изучение влияния протеолитических компонентов лактоферрина на иммунную систему лабораторных животных / С.А. Староверов [и др.] // *Ветеринарная медицина XXI века. Инновации, обмен опытом и перспективы развития: материалы Междунар. науч.-практ. конф., Саратов, 2012 г. / ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ»; редкол.: А.А. Волков [и др.]. – Саратов, 2012. – С. 298–299.*
3. Индуктор интерферона пролонгированного действия: пат. 2172631 РФ, А61К31/70, А61К31/710, 5А61 К47/06 / Г.М. Левагина, Ю.С. Аликин, В.И. Масычева, Е.Д. Даниленко, В.А. Фадина, Г.М. Игнатъев; заявитель «Вектор». – № 99121277/14; опубли. 27.08.2001.
4. Инструкция по применению препарата «Иммунат»: утв. 15.07.2013 г. – Минск: ООО «Научно-производственный центр БелАгроГен», 2013. – 2 с.
5. Карелин, А.И. Применение янтарной кислоты поросятам в период отъема от свиноматок / А.И. Карелин, Е.В. Наумкина // *Вопросы ветеринарной биологии.* – 1994. – М. – С. 70–72.
6. Лукьянова, И.А. Применение вестина и провеста для профилактики вирусных респираторных инфекций телят / И.А. Лукьянова, В.И. Плевакова // *Ветеринария Кубани.* – № 4. – 2012. – С. 7–9.
7. Масычев, В.И. У коров – сочетание индукторов интерферона с вакцинами для повышения их иммуногенности / В.И. Масычев, Е.Н. Морозова // *Обзор информ.* – М.: ВНИИСЭНТИ Минмедпрома СССР. – 1990. – Вып. 5. – 21 с.
8. Сравнительное изучение специфических препаратов на основе дсРНК / Ю.С. Аликин [и др.] // *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Овчинникова Ю.А.* – 2006. – № 3. – С. 21–28.
9. Gonzalez-Chavez, S.A. Lactoferrin: structure, function and applications / S.A. Gonzalez-Chavez, S. Arevalo-Gallegos, Q. Rascon-Cruz // *International Journal of Antimicrobial Agents.* – 2009. – Vol. 33. – P. 301–308.
10. Judy, C.K. Chan Production of Lactoferricin and Other Cationic Peptides from Food Grade Bovine Lactoferrin with Various Iron Saturation Levels / Judy C.K. Chan, Eunice C.Y. Li-Chan // *J. Agric. Food Chem.* – 2007. – Vol. 55. – P. 493–501.
11. Manual of antimicrobial susceptibility testing / Stephen J. Cavalieri [et al.] // *II. American Society for Microbiology.* – P. 53–62.
12. Susceptibilities against bovine lactoferrin with microorganisms isolated from mastitic milk / N.Y. Lee [et al.] // *J. Vet. Med. Sci.* – 2004. – Vol. 66. – P. 1267–1269.

УДК 619:616.995.1:636.39

Дударчук А.Н., аспирант

Щемелева Н.Ю., кандидат ветеринарных наук, доцент

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

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА «ВИРОКОКЦИД»

Резюме

В статье представлены исследования по разработке нового комплексного ветеринарного препарата «Вирококцид», который не обладает раздражающим, сенсибилизирующим, тератогенным и эмбриотоксическим действием и относится к малоопасным веществам (ГОСТ 12.1.007-76). Эффективность препарата «Вирококцид» составила: при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта – 82,85–100,0 %, эймериозах – 100,0 %, стронгилоидозе – 100,0 %, трихоцефалезе – 92,31–100,0 %.

Summary

The article presents research on development of new complex veterinary drug «Virococcidum», which does not have an irritating, sensitizing, teratogenic and embryotoxic effect and is a non-toxic substance. The efficiency drug «Virococcidum» is determined: with nematodes of gastrointestinal tract sheep – 82,85–100,0 %, eimeriosis – 100,0 %, strongyloidosis – 100,0 %, trichocephalosis – 92,31–100,0 %.

Поступила в редакцию 23.09.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

В течение двух последних десятилетий возросло количество заболеваний паразитами домашних животных, и ветеринарные специалисты стараются найти ответ на вопрос, почему это происходит. Одним из возможных объяснений являются нарушения в работе иммунной системы, которые проявляются в том, что животные не в состоянии адекватно реагировать на возбудителей инвазии [1]. Образ жизни паразитов позволяет им хорошо приспособиваться, и ослабленный организм хозяина является для них благоприятной средой для дальнейшего размножения. Кроме того, в условиях, когда функции защиты организма недостаточны, возбудители инвазий получают возможность к большей репродукции и элиминации в больших количествах за пределы организма с секретами и экскрементами, тем самым создавая условия для последующих заражений [3].

Принимая во внимание положение, когда эффективность большинства традиционных противопаразитарных препаратов снизилась ввиду все более возрастающей

резистентности, а иммунная система животного ослаблена, становится актуальным создание комплексных препаратов. Резистентность к таким препаратам у возбудителей возникает редко. В приоритете на сегодняшний момент остается разработка экологически чистых препаратов, не оказывающих отрицательного влияния на организм животных и качество продукции [2].

В отделе паразитологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» разработан новый экологически приемлемый ветеринарный препарат «Вирококцид», в состав которого входят современные противопаразитарные субстанции, пребиотики, органические кислоты.

Цель работы – разработка экологически приемлемых комплексных ветеринарных препаратов как основа получения качественной продукции животноводства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились в животноводческих хозяйствах республики и в

отделе паразитологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им С.Н. Вышелесского».

Фармако-токсикологическую оценку нового препарата проводили согласно «Методическим указаниям по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии», Минск, 2007.

Испытания проводили в ОАО «Речицкий КХП», ф/л «Советская Белоруссия» Речицкого района Гомельской области на 82 телятах в возрасте 4–6 месяцев и в КФК «Петровский» Минского района на 55 овцах (ягнята в возрасте 2–4 месяцев).

Для установления уровня инвазии телят ассоциативными паразитами использовали методы Г.А. Котельникова – В.М. Хренова (1974) для обнаружения яиц гельминтов и ооцист эймерий.

Для определения влияния комплексного препарата на организм животных проводили исследования крови до начала при-

менения препарата, на 7-е, 14-е и 21-е сутки. Исследовали гематологические показатели крови (содержание эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов) с помощью гематологического анализатора Mythic 18, иммуно-биохимические показатели сыворотки крови (содержание общего белка, активность ферментов печени (АлАт, АсАт и ЩФ), уровень глюкозы) с использованием наборов Cormeu на биохимическом анализаторе Dialab. Лейкоцитарную формулу выводили на основании подсчета 200 клеток в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза согласно рекомендациям А.А. Кудрявцева, Л.А. Кудрявцевой (1974).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ Фармако-токсикологическая оценка нового комплексного препарата «Вирококцид»

Результаты исследования острой токсичности представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Схема опыта по изучению острой токсичности препарата «Вирококцид»

Доза по препарату, г/кг массы животного	Количество мышей в группе	Количество животных	
		выжило	пало
10	5	5	0
15	5	5	0
20	5	5	0
25	5	5	0
30	5	5	0

Результаты представленных исследований не позволяют установить параметры острого токсического воздействия (LD₅₀, LD₁₀₀) исследуемого препарата при его внутрижелудочном введении мышам, так как при применении препарата в дозах от 10 до 30 г препарата/кг массы животного гибель мышей отсутствовала. Каких-либо заметно выраженных признаков интоксикации также не регистрировали: животные опытных групп активно двигались, их поведенческие реакции, потребление корма, состояние шерстного покрова и слизистых оболочек, а также физиологические функции не отличались от таковых у животных контрольной группы.

Для установления параметров хрони-

ческой токсичности препарат вводили мышам первой группы в трёхкратно увеличенной терапевтической дозе в течение 10 дней. Мышам второй опытной группы применяли данный образец в терапевтической дозе в течение 10 дней. Мышам третьей контрольной группы препарат не применяли. Оценку проводили на основании данных осмотра на протяжении всего срока введения препарата и последующих 7 суток, при этом учитывали общее состояние и поведенческие реакции животных, потребление корма и воды, состояние шерстного покрова и слизистых оболочек, видимые физиологические функции. Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2. – Схема опыта по изучению хронической токсичности препарата «Вирококцид»

Группы животных, n=10	Доза, мг/кг м ж	Количество животных, гол.	
		выжило	пало
Опытная № 1	300,0	10	0
Опытная № 2	100,0	10	0
Контрольная	-	10	0

За период наблюдения по общему состоянию и поведению опытная группа не отличалась от контрольной. Все исследуемые животные имели нормальные реакции, хороший аппетит, здоровый внешний вид. После окончания опыта провели вскрытие и макроскопическое исследование внутренних органов у мышей, при этом патологических изменений и различий между опытными и контрольными группами не выявили. Слизистые оболочки были без видимых изменений. Внутренние органы были нормального размера, формы и топографического расположения, отека и кровоизлияний обнаружено не было.

Таким образом, проведенные исследования по изучению острой и хронической токсичности препарата «Вирококцид» показали, что испытуемый препарат не обладает токсичностью и согласно ГОСТ 12.1.007-76 относится к 4-му классу опасности (вещества малоопасные).

Местное раздражающее действие препарата на кожные покровы определялось наблюдениями за 3 кроликами массой 2,0–2,5 кг. Препарат наносили на выстриженные 1,5×2,0 см боковые поверхности кожи (правая сторона) в разведениях 1:10, 1:50 и 1:100 на этаноле. Контролем служила противоположная (левая) сторона тела, куда наносили в этой же дозе этанол. Экспозиция составила 4 часа, после чего остатки вещества аккуратно смыли. Наблюдение вели первые 8 часов ежедневно, а затем через 16 часов после экспозиции. В результате проведенных исследований установлено, что препарат не обладает местным раздражающим действием на кожу животных, так как на протяжении всего периода наблюдений не отмечено каких-либо покраснений, припухлостей, болезненности и других изменений в месте применения препарата.

При определении раздражающего действия препарата на слизистые оболочки использовали метод конъюнктивальной пробы на 3 кроликах массой 2,0–2,5 кг. Исследования показали, что внесение тонко измельченного препарата в дозе 50 мг однократно в конъюнктивальный мешок глаза кроликов вызывало незначительное слезотечение и покраснение слизистой оболочки, которое проходило через 30–60 минут. При дальнейшем наблюдении через 24 и 48 часов каких-либо патологических изменений со стороны конъюнктивы и склеры не отмечалось. В результате опыта установлено, что препарат не обладает раздражающим действием на слизистые оболочки и органы зрения животных, так как покраснения, припухлости, болезненности, расчесов в области конъюнктивального мешка не отмечено.

Изучение сенсибилизирующей (аллергенной) способности препарата определяли методом накожных аппликаций на 10 морских свинок массой 320–350 г. Для этого препарат наносили путём многократных аппликаций на участок кожи подопытных свинок (n=5) ежедневно в течение 15 дней в разведении 1:50 и 1:100 на этаноле. Контрольным животным (n=5) наносили дистиллированную воду по аналогичной методике. Затем после 14-дневного перерыва на свежестриженные участки кожи с противоположной стороны наносили аналогично разрешающую дозу испытуемого препарата. Реакцию учитывали в течение 72 часов. В результате проведенных исследований были получены данные, свидетельствующие о том, что препарат не обладает сенсибилизирующим действием, так как он не вызывает аллергической реакции при использовании его после перерыва в длительном применении.

Изучение тератогенного и эмбриотоксического влияния препарата на организм лабораторных животных проводили согласно «Методическим указаниям по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии», Минск, 2007 [3].

Исследование препарата провели на 45 половозрелых белых крысах обоего пола массой тела 220–250 г. Для каждого состава препарата сформировали 5 групп: самок разделили на четыре опытные и одну контрольную группы по 7 голов и подсадили по 2 самца. Препарат в дозе 300 мг/кг массы тела (в три раза превышающей терапевтическую) применили крысам внутрь с кормом: крысам первой группы – с 1 по 7 день беременности (период эмбриогенеза), второй группы – с 8 по 14 день беременности (период органогенеза), третьей группы – с 15 по 19 день беременности (плодный период филогенеза), четвертой группы – с 1 по 19 день (в течение всего периода беременности). Крысам контрольной группы препарат не применяли. За животными велось клиническое наблюдение.

Для выявления эмбриотоксического эффекта по 5 самок из опытных и контрольной групп декапитировали на 20-й день беременности. После вскрытия матки и обследования плаценты, плодов, определения числа желтых тел беременности в яичниках, количества мест имплантации в матке, количества живых и мертвых зародышей установлено, что количество живых плодов у самок первой группы – 56, второй – 55, третьей группы – 57, четвертой – 55, контрольной – 58 соответственно. Количество мест имплантации совпадало с количеством живых плодов. Мертвых плодов не отмечали.

Для выявления тератогенного эффекта плоды переносили в чашки Петри с физиологическим раствором и исследовали под бинокулярной лупой с целью выявления уродств. При этом аномалий глаз (анофтальмия, микрофтальмия и др.), мозга (мозговая грыжа, прочие аномалии), лицевого черепа (заячья губа, волчья пасть и др.), конечностей, пальцев, хвоста, позво-

ночника, передней брюшной стенки не выявлено, что подтверждает отсутствие эмбриотоксического и тератогенного действия комплексного препарата на эмбрионы крысят.

Для выяснения органогенеза в постнатальном периоде было получено потомство от двух самок из каждой группы, за которым вели клиническое наблюдение в течение 2 месяцев. При этом учитывали двигательную активность, сроки открытия глаз, появление шерстного покрова и т.д. Результаты исследований показали, что во всех опытных и контрольной группах патологических родов, уродств и мертворожденных животных не наблюдалось. Отмечали рождение 25 крысят в первой группе, 22 – во второй группе, 25 – в третьей группе, 23 – в четвертой группе и 24 крысят в пятой группе соответственно. Двигательная активность животных нарушена не была. Кожные покровы целостные. Сосательный рефлекс хороший. Опушение крысят началось в 1 группе на 9–11 день, глаза полностью открылись на 16–17 день; во 2 группе – на 10–12 день, глаза полностью открылись на 16–18 день; в 3 группе – на 9–11, глаза полностью открылись на 15–17 день; в 4 группе – на 8–10, глаза полностью открылись на 15–17 день; в 5 группе – на 9–11 и 16–18 день соответственно. Наблюдение за крысятами на протяжении 2 месяцев (срок наблюдения) показало, что отклонений в их поведении, развитии и физиологическом состоянии не было отмечено. Аппетит был хороший, животные подвижные.

Таким образом, препарат, применяемый в дозе 300 мг/кг массы тела по ДВ крысам в различные сроки беременности (периоды эмбриогенеза, органогенеза, плодный период филогенеза и в течение всего периода беременности), не вызывает патологических изменений у беременных крыс, а также отклонений в развитии потомства, что свидетельствует об отсутствии у препарата тератогенных, мутагенных и эмбриотоксических свойств.

Было изучено влияние комплексного препарата на организм лабораторных животных – кроликов в подостром опыте.

Изучение проводили на 9 клинически здоровых кроликах весом 2,0–2,2 кг.

Кроликам 1 опытной группы применяли с кормом препарат в дозе 100 мг/кг (предполагаемая терапевтическая доза), 2 опытной группы – 300 мг/кг (трехкратная доза) один раз в сутки в течение 3 дней подряд, 3 группа – контроль, препарат не получала.

Кормление и поение животных проводили через 3,5–4 часа после получения препарата. Клиническое наблюдение за состоянием кроликов вели в течение 21 дня после последнего введения препарата, при этом учитывали общее состояние и поведе-

ние животных, время и полноту поедания корма, наличие жажды и др. клинические признаки.

В ходе опыта было установлено, что в течение всего периода наблюдений в клиническом состоянии кроликов опытных и контрольной группы патологических отклонений от физиологической нормы отмечено не было, животные были активны, охотно поедали корм, жажда отсутствовала, шерстный покров оставался гладким и блестящим.

При гематологическом и биохимическом исследованиях крови были получены следующие результаты.

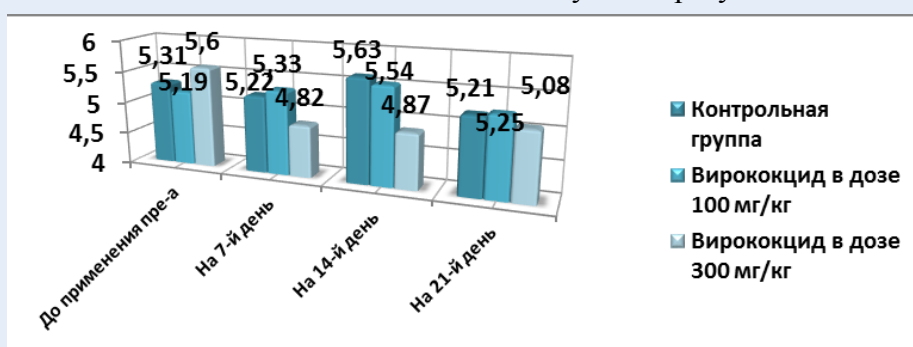


Рисунок 1. – Содержание эритроцитов в крови кроликов после применения комплексного препарата «Вирококцид», 10¹²/л

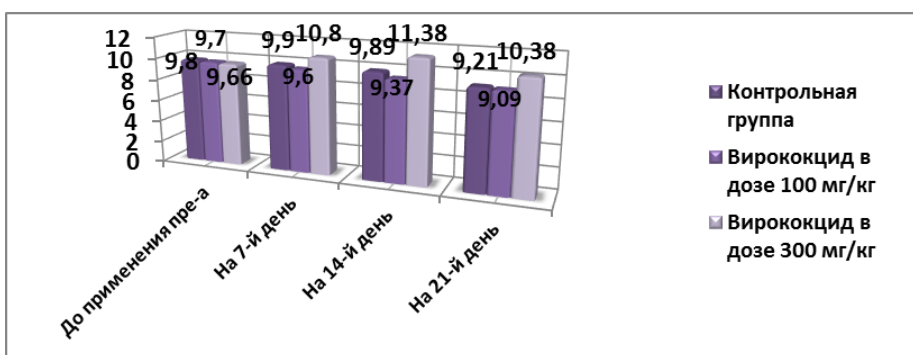


Рисунок 2. – Содержание лейкоцитов в крови кроликов после применения комплексного препарата «Вирококцид», 10⁹/л

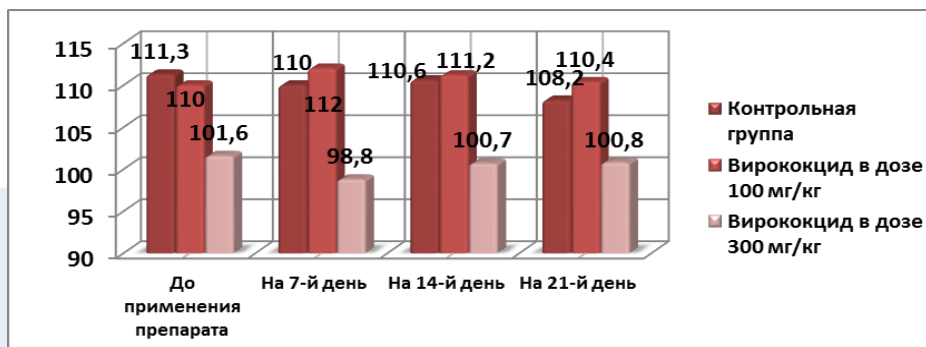


Рисунок 3. – Количество гемоглобина в крови кроликов после применения препарата «Вирококцид», г/л

ФАРМАКОЛОГИЯ

Таблица 3. – Динамика биохимических показателей в сыворотке крови кроликов после применения препарата «Вирококцид», ед/л

Сроки проведения исследования	Контрольная группа	Опытные группы	
		применение животным в дозе 100 мг/кг	применение животным в дозе 300 мг/кг
АлАт, ед/л			
До применения препарата	39,18±0,75	38,75±1,32	37,40±1,86
На 7-й день	32,61±2,03	39,12±1,22	57,71±2,66
На 14-й день	33,70±1,22	38,45±1,38	46,37±1,82
На 21-й день	33,43±3,32	42,15±2,05	38,09±0,78
ЩФ, ед/л			
До применения препарата	16,87±0,75	16,33±1,51	15,22±1,98
На 7-й день	15,11±2,03	16,86±2,14	34,01±3,22
На 14-й день	18,12±1,65	17,46±2,32	31,12±2,15
На 21-й день	17,43±0,12	15,89±1,83	25,05±3,26
АсАт, ед/л			
До применения препарата	75,87±1,23	82,75±1,65	77,40±1,98
На 7-й день	69,44±2,54	89,12±1,44	85,71±3,65
На 14-й день	73,70±1,32	88,45±2,31	86,37±3,82
На 21-й день	73,43±2,30	82,13±3,05	88,09±2,78
Общий белок, г/л			
До применения препарата	62,37±0,75	60,78±2,31	64,10±1,86
На 7-й день	62,68±2,03	63,34±3,11	60,12±1,66
На 14-й день	63,22±1,64	69,91±1,36	63,45±2,82
На 21-й день	64,80±0,32	67,10±2,44	64,09±1,78
Глюкоза, Ммоль/л			
До применения препарата	4,91±0,10	4,88±1,35	5,14±0,86
На 7-й день	5,43±0,03	5,82±1,15	4,15±0,09
На 14-й день	4,89±1,04	5,34±0,41	4,37±0,82
На 21-й день	6,21±0,32	5,38±1,08	5,09±0,60

Таблица 4. – Лейкоцитарная формула крови кроликов после применения Вирококцида, %

Группы животных	Сроки исследования	Б	Э	П	С	Л	Мон
Контрольная группа	до применения	0	1,40±0,50	4,67±0,32	28,10±1,0	69,61±2,45	0
	через 7 дней	0	2,0±1,05	4,0±1,53	26,33±2,73	68,67±1,86	1,0
	через 14 дней	0	1,35±0,33	5,53±1,45	26,30±2,08	69,0±4,52	0
	через 21 день	0	1,02±0,42	4,65±2,19	28,85±1,15	65,0±3,31	1,0
Применение в дозе 100 мг/кг	до применения	0	1,33±0,33	4,0±0,58	27,0±2,08	53,67±2,4	1,0
	через 7 дней	0	1,2±0,12	4,0±1,59	27,33±1,76	69,33±2,86	1,0
	через 14 дней	0	3,23±0,23	4,50±1,54	30,50±0,54	68,0±3,05	1,0
	через 21 день	0	2,0±0,58	4,85±2,04	26,67±0,67	66,33±3,94	0
Применение в дозе 300 мг/кг	до применения	0	1,22±0,60	4,88±0,13	28,0±1,22	65,72±1,40	1,0
	через 7 дней	0	1,21±1,0	4,0±1,55	27,12±1,56	64,61±2,06	1,0
	через 14 дней	0	1,30±0,32	5,11±1,22	26,20±2,04	67,0±3,50	1,0
	через 21 день	0	1,33±0,33	5,35±2,0	27,10±1,14	66,0±1,30	1,0

Анализируя результаты исследований по гематологии, динамике уровня общего белка, глюкозы и активности ферментов печени, а также соотношение лейкоцитов в лейкоцитарной формуле, видим, что достоверных изменений у кроликов всех опытных групп по отношению к аналогичным показателям животных контрольной группы не наблюдается (таблица 4).

Из полученных результатов исследований видно, что испытуемый препарат в дозах 100 и 300 мг/кг живой массы не оказывает отрицательного влияния на общее состояние организма, морфологические и биохимические показатели крови кроликов.

Оценка терапевтической эффективности комплексного препарата «Вирококцид»

Исследования были проведены на телятах и ягнятах.

Было обследовано 82 теленка в возрасте 4–6 месяцев, ОАО «Речицкий КХП», ф/л «Советская Белоруссия» Речицкого района Гомельской области. Заражение телят эймериями составило 100,0 % с интенсивностью инвазии $885,15 \pm 18,13$ ооцист в 1 г фекалий, стронгилятами желудочно-кишечного тракта – 78,05 %, трихоцефалами – 15,85 %. После применения Вирококцида в дозе 100 мг/кг массы тела однократно в течение двух дней подряд его эффективность составила при эймериозах 100,0 %, стронгилятозах желудочно-кишечного тракта – 100,0 %, трихоцефалезе – 92,31 %.

В КФК «Петровский» Минского района было обследовано 55 голов овец. Зара-

жение эймериями составило 16,36 % с интенсивностью инвазии $2242,44 \pm 28,14$ ооцист в 1 г фекалий, стронгилятами желудочно-кишечного тракта – 63,64 %, стронгилоидами – 47,27 %, трихоцефалами – 20,0 %.

После применения Вирококцида в дозе 100 мг/кг массы тела однократно с кормом в течение двух дней подряд его эффективность составила при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта 82,85 %, при эймериозах – 100,0 %, при стронгилоидозе – 100,0 %, трихоцефалезе – 100,0 %.

ВЫВОДЫ

1. Препарат «Вирококцид» относится к 4-му классу опасности (малоопасные вещества) по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества», не обладает тератогенным и эмбриотоксическим действиями, а также сенсibiliзирующей (аллергенной) способностью, раздражающим действием на слизистые оболочки и кожу.

2. Эффективность применения препарата ветеринарного «Вирококцид» в дозе 100 мг/кг массы тела у телят при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта составила 100,0 %, при эймериозе – 100,0 %, трихоцефалезе – 92,31 %.

3. Эффективность применения препарата ветеринарного «Вирококцид» в дозе 100 мг/кг массы тела у ягнят при стронгилятозах желудочно-кишечного тракта составила 82,85 %, при эймериозах – 100,0 %, стронгилоидозе – 100,0 %, трихоцефалезе – 100,0 %, отрицательного воздействия на организм животных выявлено не было.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалевская, Е.О. *Некоторые вопросы эпизоотологии кишечных нематодозов овец в условиях северо-восточного региона Республики Беларусь* / Е.О. Ковалевская, Г.Т. Артыков, А.П. Димитриади // *Современные технологии сельскохозяйственного производства*. – 2011. – № 4. – С. 45–46.
2. Якубовский, М. *Паразитарные болезни овец: проблемы при протозоозах* / М. Якубовский // *Ветеринарное дело*. – 2016. – № 1. – С. 11–13.
3. Ятусевич, А.И. *Болезни овец и коз: практ. пособие* / А.И. Ятусевич, Р.Г. Кузьмич. – Витебск: УО ВГАВМ, 2013. – 519 с.

УДК 619:579.62:615.9

Дубинич В.Н., старший преподаватель

УО «Гродненский государственный аграрный университет», г. Гродно

МИКОТОКСИНЫ

Резюме

Микотоксины являются вторичными метаболитами микромицетов, обладающими ярко выраженными токсическими свойствами. Представляют собой низкомолекулярные неиммуногенные соединения с высокой термоустойчивостью. Всего в мире, по данным FAO, микотоксинами ежегодно контаминируется более 25 % урожая зерновых. Общее количество микотоксинов не установлено, однако на сегодняшний день подтверждена высокая токсичность 47 соединений, 15 из которых обладают канцерогенным, мутагенным, эмбриотоксическим и иммуносупрессивным эффектами. Так, Международным агентством исследования рака (IARC) на основании научных исследований афлатоксин B1 отнесён в группу 1 – канцерогены человека; охратоксин А, афлатоксин М1, фумонизины – в группу потенциальных канцерогенов человека (2В). Накапливаясь в кормах, микотоксины попадают в организм сельскохозяйственных животных и птицы, а затем с сырьём животного происхождения включаются в пищевую цепь человека.

Summary

Mycotoxins are secondary metabolites of micromycetes, with pronounced toxic properties. They are low-molecular, non-immunogenic compounds with high thermal stability. According to the FAO data, more than 25 % of the grain harvest is constantly contaminated with mycotoxins in the world. The total number of mycotoxins has not been established, but today, the high toxicity of 47 compounds has been confirmed, 15 of which are carcinogenic, mutagenic, embryotoxic and immunosuppressive. Thus, the International Agency for Cancer Research (IARC), on the basis of scientific research, aflatoxin B1 has been assigned to group 1 – human carcinogens; ochratoxin A, aflatoxin M1, fumonisins – in the group of potential human carcinogens (2B). Accumulating in feed, mycotoxins enter the body of farm animals and poultry, and then, with raw materials of animal origin, are included in the human food chain.

Поступила в редакцию 16.10.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Процесс интенсификации животноводства является мировой тенденцией. Однако увеличение количества производимой животноводческой продукции влечёт за собой наращивание объёмов производства всех видов кормов с обязательным условием сохранения их высокого качества.

Микотоксины приводят к загрязнению кормов животных чаще, чем какие-либо другие соединения, а по степени биологической опасности стоят на втором месте после пестицидов [1].

Ежегодный экономический ущерб во всём мире от потери сельскохозяйственной продукции при поражении плесневыми грибами колеблется в пределах от 22 до 30 млрд долларов [1, 2]. По данным Организации по продовольствию и сельскому хозяйству при ООН, до 30 % мирового урожая загрязнено микотоксинами [2, 3].

На сегодняшний день известно более 350 микромицетов, выделяющих не менее 300 микотоксинов [3], однако существуют данные о том, что общее количество токсичных метаболитов, выделяемых мицелиальными грибами, составляет около 2 000 соединений, причём 47 из них являются высокотоксичными, а 15 обладают канцерогенным, мутагенным и эмбриотоксическим действием [4, с. 48]. Их содержание в кормах, пищевом сырье и продуктах питания регламентируется более чем в 130 странах, а количество контролируемых микотоксинов колеблется от 2 до 23 видов [1]. В частности, в Республике Беларусь регламентируется содержание в кормах 6 видов микотоксинов.

Загрязнение кормов микотоксинами происходит в результате контаминации мицелиальными грибами в процессе производства, при транспортировке и хранении. Ток-

сигенные виды обнаружены во всех таксономических группах грибов, 30–40 % штаммов грибов могут продуцировать микотоксины. Микромицеты поражают как вегетирующие растения (*Fusarium spp.*, *Alternaria spp.*, *Claviceps spp.*), так и хранящиеся растительные корма (*Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.* и др.).

Оптимальными условиями для роста мицелия и продуцирования микотоксинов является влажность субстрата выше 15–20 %, относительная влажность воздуха 85–95 %, а температура субстрата и окружающей среды – от 4 до 30 °С [3].

В химическом отношении микотоксины являются низкомолекулярными [5, с. 10, 6], неиммуногенными [7] вторичными метаболитами мицелиальных грибов, образующимися в результате влияния на таллом гриба сложносочетанного воздействия физико-химических и экологических факторов. Кроме того, активация синтеза микотоксинов может происходить в результате окислительного стресса [5, с. 11–12].

На сегодняшний день известно 5 основных путей образования микотоксинов [8]:

- 1) поликетидный;
- 2) терпеноидный;
- 3) через цикл трикарбоновых кислот;
- 4) с использованием аминокислот как исходных соединений;
- 5) смешанный.

Патогенное действие микотоксинов на организм млекопитающих на клеточном уровне основано на:

- ингибировании синтеза ДНК и РНК и образовании аддуктов ДНК (охратоксин А, Т-2 токсин и др);

- изменении мембранных структур (афлатоксин, фумонизин, дезоксиниваленон, зеараленон);

- запуске апоптоза (Т-2 токсин, охратоксин А) [3, 9].

Немаловажно и то, что микотоксины способны оказывать такие отдалённые патологические воздействия, как мутагенное, канцерогенное, тератогенное, эмбриотоксическое и иммуносупрессивное [3].

Характеристика отдельных групп микотоксинов

Афлатоксины. Данная группа включает 20 видов токсинов, и до недавнего времени считалось, что они синтезируются только двумя видами – *Aspergillus flavus* и *Aspergillus parasiticus*. Однако последние исследования показали, что афлатоксины способны продуцировать более 20 видов трёх родов *Aspergillus* [10]. В химическом отношении афлатоксины являются дифуранокумаринами, образуемыми по поликетидному пути.

Обнаружение и интенсивное изучение афлатоксинов было начато в 1961 г. Толчком послужил падеж около 100 000 индеек в окрестностях Лондона. Причиной гибели птицы явился афлатоксин В₁, который содержался в импортированном арахисовом шроте [11].

Наиболее часто встречающимися из данной группы считаются афлатоксины В₁, В₂, G₁, G₂, однако основное санитарно-токсикологическое значение имеет афлатоксин В₁ как наиболее часто выделяемый из исследуемых образцов [6]. Кроме того, Международное агентство по исследованию рака (IARC) в 1987 году включило афлатоксин В₁ как карциноген в группу 1 [10, 11] с высоким риском образования гепатоцеллюлярной карциномы [12]. В 2002 году и его метаболит, афлатоксин М₁, был отнесён в группу 2В как потенциальный карциноген человека [10, 12].

Афлатоксин М₁ является продуктом гидроксирования афлатоксина В₁ и выделяется с молоком коров в количестве 0,3–6,2 %. Однако афлатоксин М₁ нельзя считать продуктом детоксикации в связи с тем, что он обладает выраженным токсическим и иммуносупрессивным эффектами [13].

Наиболее чувствительными к проявлению действия афлатоксина В₁ считаются крупный рогатый скот и птица [14].

При скармливании животным кормов, содержащих афлатоксин В₁, одним из основных органов-мишеней является печень, что связано с метаболизмом афлатоксинов в гепатоцитах [15]. Воздействие афлатоксина В₁ приводит к угнетению

синтеза белка и образованию аддуктов в клетках печени [3].

Клиническая картина характеризуется снижением продуктивности животных, поражением печени и иммуносупрессией [14, 16]. Отмечается нарушение свёртываемости крови, что приводит к возникновению кровоизлияний, а поражение репродуктивных органов приводит к абортam и мертворождению [17]. Патологические изменения в паренхиме почек вызваны как непосредственно самим афлатоксином В₁, так и его метаболитами, циркулирующими в крови [15].

Под действием афлатоксинов нарушается работа желудочно-кишечного тракта вследствие развития дисбактериоза [16].

Охратоксины – это группа из более чем 20 метаболитов, среди которых выделяют четыре основных: А, В, С и D [8].

Впервые охратоксин А (ОТА) был выделен в Южной Африке в 1965 г. как метаболит штамма *Aspergillus ochraceus* из кукурузной муки [18].

Позже было установлено, что, кроме *A. ochraceus*, продуцентами охратоксинов также являются *P. viridicatum*, *A. carbonarius*, *A. niger*, *P. verrucosum* [9] и ряд других микромицетов [8].

Охратоксин А – наиболее распространенный и токсичный метаболит среди всей группы охратоксинов [8, 9, 18]. В химическом отношении представляет собой 5-хлоризокумарин, связанный пептидной связью с L-фенилаланином [19].

Международное агентство по исследованию рака (IARC) внесло ОТА в группу 2В как потенциальный карциноген человека [18].

Установлено, что ведущим патологическим воздействием на организм охратоксина А является нарушение баланса между оксидантами и прооксидантами, что вызывает окислительный стресс [9].

Вследствие сходства молекул ОТА и фенилаланина происходит замещение последнего с нарушением активности фенилаланин гидроксилазы в почках и печени [12]. Кроме того, ОТА приводит к нарушению синтеза РНК и ДНК [9]. Перечислен-

ные выше процессы ведут к изменению экспрессии генов и апоптозу в клетках таких органов, как почки, печень, желудок, нервных клетках, а также в лимфоцитах [9].

Таким образом, в организме сельскохозяйственных животных наблюдается симптоматика, соответствующая патологии почек, печени и эпителия кишечника. Кроме того, доказано, что ОТА приводит к формированию новообразований в мочевыводящих путях [19].

Фузаровые микотоксины. Микромицеты рода *Fusarium* считаются одной из наиболее распространённых групп, способных продуцировать токсичные метаболиты [7]. Мицелиальные грибы данного рода насчитывают более 90 описанных видов, продуцирующих 3 основные группы токсичных метаболитов: трихотецены, фуманизины, зеараленоны.

Группа трихотеценовых микотоксинов состоит из родственных соединений сесквитерпеновых эпоксидов и включает более 60 соединений. Все микромицеты-продуценты условно разделены на две монофильные группы [20].

Непосредственно трихотеценовые микотоксины объединены в четыре группы согласно их химическому строению:

- 1) тип А (Т-2, НТ-2, триходермин, неосоланиол и др.);
- 2) тип В (ниваленол, деоксиниваленол, фузаренон-Х и др.);
- 3) тип С (кратоцин);
- 4) тип D (сатратоксин Н, роридин А, верукарин и др.) [21].

Для всей группы трихотеценовых микотоксинов характерна значительная цитотоксичность. Это обусловлено тем, что под влиянием трихотеценов ингибируется синтез нуклеиновых кислот, белка, угнетается деятельность митохондрий за счёт уменьшения митохондриального мембранного потенциала, процесс деления клеток, а также дестабилизируется клеточная мембрана [22].

Следует упомянуть, что для трихотеценовых микотоксинов основными клетками-мишенями являются также лейкоциты, а это может приводить к развитию иммуносупрессий.

Т-2 токсин продуцируется *F. tricinctum*, *F. sporotrichiella*, *F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. sulphureum* и др. и относится к трихотеценам типа А [21]. Впервые был выделен в 1968 году.

В химическом отношении Т-2 токсин представляет собой тетрациклическое сесквитерпеноидное кольцо с эпоксидными кольцами в положении 12 и 13, обуславливающие высокую токсичность, превышающую таковую иприта в 400 раз [2, 21].

По некоторым литературным данным, Т-2 токсин использовался в качестве биологического оружия в вооружённом конфликте в Лаосе, Вьетнаме и Камбодже и известен под названием «жёлтый дождь» [21].

Токсический эффект Т-2 токсина обусловлен наличием в структуре эпоксидного кольца, которое может вступать в реакции с нуклеофильными группами, мембранными фосфолипидами, повреждая клеточные структуры. Обладая высокой аффинностью к рибосомальной субъединице 60S, ингибирует пептидилтрансферазы, что в свою очередь приводит к ингибированию синтеза белка [23].

Интоксикация может быть вызвана при различных путях проникновения Т-2 токсина в организм: контактным, алиментарном и ингаляционном. При этом происходит поражение сердечно-сосудистой, нервной и пищеварительной систем организма животных. Угнетается гемопоэз, наблюдается иммуносупрессия, связанная со снижением количества циркулирующих фагоцитов, кроме того, снижаются фагоцитарная активность и выработка иммуноглобулинов [24].

Среди сельскохозяйственных животных жвачные считаются более устойчивыми к Т-2 токсину, чем моногастричные, так как данный метаболит микромицетов частично подвергается процессам дезоксидирования и деацетилирования в рубце [21]. Однако часть неизменённого Т-2 токсина всё же поступает в кровь, что у дойных коров приводит к снижению потребления корма и продуктивности; гиперемии, кровоизлияниям и изъязвлению слизистой оболочки преджелудков, сычуга и кишеч-

ника, а также отслоению рубцовых сосочков. У телят происходит снижение количества лейкоцитов, нейтрофилов и сывороточных иммуноглобулинов [3, 21].

У свиней незначительные дозы Т-2 токсина приводят к отказу от корма, снижению роста и развития. Острая токсичность характеризуется рвотой, диареей, лейкопенией, кровоизлияниями внутренних органов и на коже с последующей их некротизацией и гибелью животных. Кроме того, имеются данные об апоптозе иммунокомпетентных клеток и органов, приводящем к иммуносупрессии [25].

Биоаккумуляция Т-2 токсина не происходит, однако, согласно данным Всемирной организации здравоохранения, до 1 % Т-2 токсина от первоначально поступившего с кормом проникает в молоко и яйцо, а содержание в мясе бройлеров может достигать 2 % [26].

Наиболее значимыми продуцентами **дезоксиниваленола** (ДОН, vomitоксин) являются *F. graminearum*, *F. Culmorum*, а также *F. cerealis*, *F. Pseudograminearum* [7, 27].

ДОН впервые был обнаружен и охарактеризован в 1972 г. среди других метаболитов вида *F. graminearum* и относится к классу 8-оксотрихотеценов, а его молекула представляет собой тетрациклическую кольцевую систему 4-дезоксиниваленол [8].

В результате процессов детоксикации в растениях дезоксиниваленол частично метаболизируется до ДОН-3-β-D-гликопиринозида [27], что не позволяет своевременно выявлять его истинное количество в кормах.

Международное агентство по исследованию рака (IARC) отнесло ДОН к группе 3 как вещество, не оказывающее канцерогенного действия на организм человека [28].

Механизм действия дезоксиниваленола связан с ингибированием синтеза белка, угнетением процесса трансляции и развитием риботоксического стресса. Кроме того, ДОН запускает работу некоторых митогенактивированных протекиназ, которые вызывают развитие воспалительных реакций, окислительного стресса в клетке,

а также провоцируют апоптоз [29].

По данным Medvedova M. et al., Han J. et al., vomitоксин способен провоцировать развитие патологических эффектов в эндокринной системе [30].

О накоплении ДОН в органах и тканях на сегодняшний день нет единого мнения. Так, по данным Schneweis I. et al. и Amuzie C.J., Pestka J.J. et al., дезоксиниваленол накапливается в мышцах и печени свиней, а в организме лабораторных животных – в селезёнке, печени, лёгких и почках. В то же время, по данным Жуленко и др., ДОН не накапливается в организме и достаточно быстро разрушается в желудочно-кишечном тракте и печени [8, 31].

Дезоксиниваленол малотоксичен для кур, а в отношении млекопитающих относится ко второму классу опасности [8].

Свиньи считаются наиболее чувствительными к vomitоксину. Основными симптомами при отравлении ДОН являются снижение аппетита, рвота, диарея, снижение темпов роста, а при вскрытии наблюдают органические повреждения желудочно-кишечного тракта [8, 11, 32].

Зеараленон (ZEA) относят к числу наиболее часто встречающихся микотоксинов в мире. По данным Научного объединения по вопросам, связанным с продуктами питания (SCOOP), более чем в 32 % проб различного зерна был обнаружен зеараленон [33].

Основными продуцентами данного микотоксина являются *F. graminearum*, *F. culmorum*.

Зеараленон не обладает острой токсичностью, но проявляет ярко выраженное эстрогенное действие вследствие воздействия на рецепторы эстрогена [22]. В результате наблюдается гиперэстрогенизм, анаэструс, атрофия яичников, фиброз и гиперплазия эндометрия, изменяется вес щитовидной железы, надпочечников и гипофиза; отмечается нарушение уровня прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови, рак молочной железы и эндометрия, а также повреждение печени [22].

Кроме того, зеараленон обладает мутагенными свойствами. Так, в результате

исследований Taranu et al., было выявлено изменение 1954 генов под воздействием малых доз зеараленона (10 μ M) на клетки кишечника [34].

Иммуномодулирующий эффект зеараленона в организме животных, а также нарушение регенерации клеток связаны с повышением экспрессии таких цитокинов, как фактор некроза опухоли- α , интерлейкина-6 и интерлейкина-8 [35].

Что касается биоаккумуляции, ряд исследований показали, что зеараленон и его метаболиты, α -зеараленон (α -ZOL), β -зеараленон (β -ZOL), способны накапливаться как в растениях, так и в организме сельскохозяйственных животных. В результате этого происходит загрязнение всех уровней пищевой цепи, что в конечном итоге оказывает негативное воздействие на организм человека.

Фумонизины являются вторичной группой метаболитов, продуцируемых микромицетами рода *Fusarium*, *Aspergillus* и *Alternaria* [5, стр. 69, 7, 32]. Впервые они были описаны и охарактеризованы в 1988 году [11].

Группа фумонизинов достаточно обширна – на данный момент изолировано 28 видов, классифицированных в четыре подгруппы: А, В, С и Р [12]. Однако наиболее часто в исследуемых пробах кормов и продуктов питания встречаются фумонизины В₁ (FB1), В₂ и В₃, причём фумонизин В₁ считается наиболее токсичным [5, стр. 49], а процент его обнаружения в образцах, содержащих кукурузу, превышает 50 % среди всей группы фумонизинов.

Согласно классификации IARC, фумонизины относятся к группе 2В и считаются потенциальными канцерогенами человека [11].

Патологическое действие данной группы вторичных метаболитов микромицетов на организм основано на ингибировании синтеза липидов и разрушении сфинголипидов в биологических мембранах. Также они препятствуют поступлению в клетку фолиевой кислоты [5, с. 21, 8].

Подобное действие приводит к поражению различных органов и тканей, что

проявляется нарушением работы желудочно-кишечного тракта, органов дыхания, повреждением нервных тканей и иммуносупрессией [4, стр. 56].

Наиболее восприимчивыми считаются свиньи и лошади. У данных видов симптомы интоксикации появляются при поступлении 0,2 мг/кг массы тела фумонизина В₁ с кормом, а 12 мг/кг у свиней приводит к летальному отёку лёгких и гидротораксу.

По данным Фетисова и др. (2012 г.), у поросят в первую очередь наблюдается поражение печени с накоплением в ней фумонизина В₁ [36].

У лошадей и кроликов в результате воздействия фумонизинов происходит развитие лейкоэнцефаломалиции [11]. Продуктивная птица считается менее чувствительной к данной группе микотоксинов, однако и у них фумонизины способны вызвать замедление роста и патологические изменения со стороны нервной системы [32].

Фумонизин В₁ оказывает выраженное канцерогенное и эмбриотоксическое дозозависимое действие у животных различных видов. Так, при проведении исследований на эмбрионах птиц было установлено увеличение их смертности, а ранние эмбриональные патологические изменения включали гидроцефалию, увеличение клюва и удлинение шеи. Кроме того, патологические изменения наблюдались в печени, миокарде, лёгких, кишечнике и других органах [37].

Умеренно континентальный климат Республики Беларусь способствует развитию ряда штаммов-продуцентов микромицетов, выделяющих трихотеценовые микотоксины. На основании данных, предоставленных ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр» и областными ветеринарными лабораториями, за последние 5 лет в Республике Беларусь было проведено 24840 исследований проб различных кормов, из них содержали микотоксины выше максимально допустимого уровня 617 проб, что составляет 2,48 %. Наиболее часто в кормах выделялся дезоксиниваленол и Т-2 токсин – 6,25 % и 4,24 % соответственно. Охратоксин А выделялся лишь в 2,15 % случаев. Количество проб, содержащих афлатоксин и зеараленон, было минимальным и составило 0,39 % и 0,36 % соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из приведённых выше данных следует, что вторичные метаболиты плесневых грибов способны загрязнять не только корма для животных и продукты питания растительного происхождения, но и накапливаться в сырье животного происхождения. Учитывая такие свойства микотоксинов, как канцерогенное, мутагенное, тератогенное, иммуносупрессивное и т.п., данная проблема приобретает весомую социальную значимость в рамках охраны здоровья человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Монастырский, О.А. Микотоксины – глобальная проблема безопасности продуктов питания и кормов / О.А. Монастырский // *Агрехимия*. – 2016. – № 6. – С. 67–71.
2. Охупкина, В.Ю. Эколого-эпидемиологическое значение микромицетов рода *Fusarium* / В.Ю. Охупкина, А.А. Ханжин // *Теоретическая и прикладная экология*. – 2012. – № 2. – С. 5–14.
3. Герунова, Л.К. Профилактика микотоксикозов в животноводстве / Л.К. Герунова, В.И. Герунов, Д.В. Корнейчук // *Вестник Омского государственного аграрного университета*. – 2018. – № 3 (31). – С. 36–43.
4. Кайсын, Л. Эффективность ферментных, пробиотических и адсорбентных кормовых добавок в кормлении племенных свиней: диссертация доктора хабилитат сельскохозяйственных наук: 421.02 / Л. Кайсын. – Кишинёв, 2015. – С. 243.
5. Микотоксины (в пищевой цепи) / К.Х. Папуниди [и др.]; под ред. Р.С. Гараева, Г.В. Конюхова, В.Г. Софронова. – 2 изд. – Казань: Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, 2017. – С. 187.
6. Микотоксины и микотоксикозы животных – актуальная проблема сельского хозяйства. / Р.С. Овчинников [и др.] // *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. – 2018. – № 1(25). –

С. 114–123.

7. Тарасова, Е.Ю. Клинические, гематологические и биохимические показатели овец при воздействии Т-2 токсина на фоне применения лекарственных средств / Е.Ю. Тарасова, М.Я. Тремасов // Учёные записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2013. – № 213. – С. 278–282.
8. Ахмадышин, Р.А. Микотоксины – контаминанты кормов / Р.А. Ахмадышин, А.В. Канарский, З.А. Канарская // Вестник Казанского технологического университета. – 2007. – № 2. – С. 88–103.
9. Фисинин, В. Микотоксины и антиоксиданты: непримиримая борьба. Охратоксин А / В. Фисинин., П. Сурай // Комбикорма. – 2012. – № 3. – С. 55–60.
10. Aflatoxins: Implications on Health / Usha P Sarma, Preetida J Bhetaria, Prameela Devi, Anupam Varma // Indian Journal of Clinical Biochemistry. – 2017. – jun. – Vol. 32, no. 2. – Pp. 124–133.
11. Bennett, J.W. Mycotoxins / J.W. Bennett, M Klich // Clinical microbiology reviews. – 2003. – Vol. 16, no. 3. – Pp. 497–516.
12. Alshannaq, Ahmad. Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food / Ahmad Alshannaq, Yu Jae-Hyuk // International journal of environmental research and public health. – 2017. – jun. – Vol. 14, no. 6.
13. Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk / A. Veldman [et al.] // Animal Production. – 1992. – Vol. 55, no. 02. – Pp. 163–168.
14. Мазыгула, Е.Д. Оценка токсичности и экологической опасности сырья и кормов, содержащих микотоксины / Е.Д. Мазыгула, М.Д. Харламова // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: экология и безопасность жизнедеятельности. – 2015. – № 1. – С. 50–56.
15. Федяков, Р.В. Состояние системы прооксиданты-антиоксиданты в почках крыс, которым вводили афлатоксин В1 / Р.В. Федяков, Г.Л. Антоняк, О.М. Стефанишин // Биология тварин. – 2011. – Т. 13, № 1–2. – С. 291–295.
16. Профилактика афлатоксикоза у поросят / Л.Е. Матросова [и др.] // Свиноводство. – 2011. – № 4. – С. 62–65.
17. Отравление животных на свинокомплексе. / М.Я. Тремасов [и др.] // Свиноводство. – 2012. – № 1. – С. 67–69.
18. Москва, Е.М. Определение охратоксина А в пищевых продуктах / Е.М. Москва, Л.Л. Белышева // Здоровье и окружающая среда. – 2014. – Т. 2, № 24. – С. 210–212.
19. Резникова, Л.Г. Сравнительный анализ различных методов определения охратоксина А / Л.Г. Резникова, А.Г. Полоневич // Здоровье и окружающая среда. – 2010. – № 15. – С. 445–449.
20. Липницкий, А.В. Молекулярно-генетические подходы к идентификации грибов-продуцентов трихотеценовых микотоксинов / А.В. Липницкий, В.А. Антонова, М.А. Гришина // Проблемы медицинской микологии. – 2007. – Т. 9, № 3. – С. 16–20.
21. T-2 mycotoxin: toxicological effects and decontamination strategies / Manish Adhikari [et al.] // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8, no. 20. – Pp. 33933–33952.
22. Studies on the presence of mycotoxins in biological samples: An overview / Laura Escriva, Guillermina Font, Lara Manyes, Houda Berrada // Toxins. – 2017. – Vol. 9, no. 8.
23. Biological Toxins as the Potential Tools for Bioterrorism / Edyta Janik [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2019. – Vol. 20, no. 5.
24. Тарасова, Е.Ю. Показатели неспецифической резистентности белых крыс при Т-2 микотоксикозе на фоне применения Актотегина и Гамавита / Е.Ю. Тарасова, Э.И. Семенов, М.Я. Тремасов // Успехи медицинской микологии. – М.: Общероссийская общественная организация «Общественная национальная академия микологии», 2014. – С. 350–352.
25. Солдатенко, Н.А. Влияние Т-2 токсина на организм свиней / Н.А. Солдатенко, Л.Н. Фетисов, Е.А. Бокун // Успехи медицинской микологии. – М.: Общероссийская общественная организация «Общественная национальная академия микологии», 2018. – С. 335–336.
26. World Health Organization (WHO). Selected Mycotoxins: Ochratoxin, Tri-chothecenes, Ergot. Environmental Health Criteria. – 1990. – P. 105.
27. Соколова, Г.Д. Замаскированные микотоксины / Г.Д. Соколова // Успехи медицинской микологии. – М.: Общероссийская общественная организация «Общественная национальная академия микологии». – 2015. – С. 311–314.
28. Mycotoxins as human carcinogens the IARC Monographs classification / Vladimir Ostry [et al.] // Mycotoxin Research. – 2017. – feb. – Vol. 33, no. 1. – Pp. 65–73.

29. Ribotoxic stress response: activation of the stress-activated protein kinase JNK1 by inhibitors of the peptidyl transferase reaction and by sequence-specific RNA damage to the alpha-sarcin/ricin loop in the 28S rRNA. / M. S. Jordanov [et al.] // *Molecular and cellular biology*. – 1997. – jun. – Vol. 17, no. 6. – Pp. 3373–3381.

30. The effect of deoxynivalenol on the secretion activity, proliferation and apoptosis of porcine ovarian granulosa cells in vitro / Marina Medvedova, Adriana Kolesarova, Marcela Capcarova [et al.] // *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. – 2011. – apr. – Vol. 46, no. 3. – Pp. 213–219.

31. Жуленко, В.Н. Ветеринарная токсикология / В.Н. Жуленко, М.И. Рабинович, Г.А. Таланов / Под ред. В.Н. Жуленко. – М.: КолосС, 2004. – С. 384.

32. Роль токсинообразующих видов грибов и микотоксинов в снижении биологической полноценности зерна злаковых культур / О.А. Монастырский [и др.] // *Наука Кубани*. – 2008. – № 3. – С. 40–46.

33. Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states. – 2003.

34. Exposure to zearalenone mycotoxin alters in vitro porcine intestinal epithelial cells by differential gene expression / Ionelia Taranu [et al.] // *Toxicology Letters*. – 2015. – jan. – Vol. 232, no. 1. – Pp. 310–325.

35. Broom Leon. Mycotoxins and the intestine / Leon Broom // *Animal Nutrition*. – 2015. – Vol. 1, no. 4. – Pp. 262–265.

36. Фетисов, Л.Н. Особенности удерживания фумонизина В1 в крови и внутренних органах лабораторных крыс и поросят / Л.Н. Фетисов // *Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии*. – 2012. – Т. 2(8). – С. 95–96.

37. Developmental Toxicity of Mycotoxin Fumonisin B₁ in Animal Embryogenesis: An Overview. / Chompunut Lumsangkul [et al.] // *Toxins*. – 2019. – Vol. 11, no. 2.

Препарат ветеринарный **ВИРОКОКЦИД**

для лечения ассоциативных гельминтозов овец



- ▶ Широкий спектр действия
- ▶ Экологически чистый – животноводческую продукцию можно использовать сразу после его применения

▶ Недорогой, доступный препарат

▶ Удобен в применении с кормом

НОВИНКА!



тел./факс (+37517) 508-81-31, тел. (+37517) 508-81-35
e-mail: bievm@tut.by

WWW.BIEVM.BY

УДК 619:616.614.48

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

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

**ПРИМЕНЕНИЕ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «АЛЬДЕЧАС»
 ДЛЯ САНАЦИИ ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ПОМЕЩЕНИЙ
 И ПРОФИЛАКТИКИ ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИХ
 ПОРАЖЕНИЙ КОПЫТЕЦ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Резюме

В статье идет речь о проведении испытаний по эффективности дезинфицирующего средства «Альдечас» в условиях животноводческого хозяйства.

Summary

In article there is a speech about carrying out of tests by efficiency of a disinfectant «Aldechas» in the conditions of a cattle-breeding economy.

Поступила в редакцию 23.09.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Производственная санитария в агро-промышленном комплексе является одним из решающих факторов, позволяющих сохранить и преумножить здоровье сельскохозяйственных животных и получать от них безопасную в биологическом и экологическом отношении продукцию для обеспечения продовольственных потребностей населения [2, 3, 4, 7].

На сегодняшний день дезинфекция является важнейшим звеном в профилактике распространения инфекционных заболеваний человека и животных, предотвращении микробиологического поражения кормов, а также сырья и продуктов животного происхождения, обеспечении надлежащих зоогигиенических параметров в животноводческих и птицеводческих помещениях и санитарных норм на предприятиях перерабатывающей промышленности [1, 3, 5, 8]. Дезинфекция животноводческих помещений обеспечивает благополучие животноводства по заразным болезням, что в конечном итоге положительно сказывается на качестве получаемой продукции.

Качественные и экономические характеристики санитарных мероприятий при обработке объектов ветеринарного надзора во многом зависят от выбора средств и методов дезинфекции [7, 10, 11]. На белорусском рынке представлено большое количество дезинфектантов, но далеко не все они удовлетворяют нынешним требованиям (широкий спектр биоцидных свойств, низкая токсичность, экологичность, биоразлагаемость, экспозиция, растворимость, удобство при использовании, себестоимость).

Через незначительное время в помещениях, где была проведена обработка и размещены животные, происходит быстрое восстановление микрофлоры в связи с процессами жизнедеятельности животных, а бактерионосительство приводит к заносу условно-патогенной и патогенной микрофлоры. Актуальной становится разработка новых средств и методов, направленных на защиту животных от агрессивной среды обитания [6, 7, 10].

Микробиологические исследования показывают, что при выраженной селективной способности циркулирующие в окру-

жающей среде микроорганизмы способны формировать устойчивость не только к антибиотикам, но и к дезинфицирующим средствам (дезинфектантам). Все это требует глубокого анализа и поиска новых препаратов с различными механизмами действия, разработки композиционных препаратов путем сочетания нескольких антимикробных соединений с целью предупреждения селекции устойчивых вариантов [1, 3, 4, 6].

В последнее время как в медицине (здравоохранении), так и в сельском хозяйстве большое распространение получили дезинфицирующие средства, состоящие из комплекса действующих веществ. Комбинирование компонентов и материалов, входящих в состав средства, может давать улучшение биоцидных свойств по сравнению с тем, что можно было бы ожидать, основываясь на их индивидуальной эффективности при применении конкретных концентраций. Наблюдаемый синергизм дает возможность уменьшить количество этих материалов, которые нужно применять для достижения приемлемых биоцидных свойств, благодаря чему можно уменьшить воздействие на окружающую среду и понизить материальные затраты [4, 10].

В настоящее время широкое распространение получили дезинфектанты, в состав которых в качестве действующего вещества входит глутаровый альдегид. Такие препараты имеют улучшенные «цидные» свойства, не вызывают коррозии инструментов, не повреждают ткани и поверхности, стабильны (что позволяет использовать растворы многократно), обладают хорошей проникающей способностью, быстрой разрушаемостью в сточных водах.

Среди многих действующих веществ, используемых в производстве биоцидов, все большую популярность приобретает группа четвертичных соединений аммония, имеющих ряд конкурентных преимуществ перед остальными антисептиками. Их отличительными чертами являются комплексное действие, стабильность, низкая токсичность и эффективность [9, 11].

Целью нашей работы являлось создание нового дезинфицирующего средства

(глутаровый альдегид, четвертичное аммонийное соединение (ЧАС), медь сернокислая пятиводная, комплексообразователь, солибилизатор), предназначенного для дезинфекции объектов ветеринарного надзора и для профилактики гнойно-некротических процессов дистальных отделов конечностей животных. Действующие вещества средства участвуют в сопряженных окислительно-восстановительных реакциях, которые и лежат в основе механизма взаимодействия с биоконпонентами клеток организма животного и микроорганизмов. Кроме отнятия кислорода, молекулы средства взаимодействуют с сульфгидрильными группами белков микроорганизмов, в том числе и ферментов, вызывая их денатурацию с одновременным ингибированием каталитической роли ферментов, что в конечном итоге приводит к гибели клеток микроорганизма. Все активные компоненты являются взаимодополняющими и действуют синергетически.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнялась в лаборатории экологии и ветсанитарии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», а также на животноводческих комплексах по содержанию крупного рогатого скота хозяйств Минского и Бобруйского районов.

Опыты по испытанию средства проводили согласно программе производственных испытаний и временной инструкции, согласованной с Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь.

На первом этапе была изучена эффективность средства дезинфицирующего «Альдечас» при обработке воздуха и поверхностей животноводческих помещений. Перед дезинфекцией проводили тщательную механическую очистку и мойку обрабатываемых поверхностей.

Дезинфекцию животноводческих помещений (телятников) и находящегося в них технологического оборудования про-

водили путем крупнокапельного орошения поверхностей 0,25%-ным раствором при норме расхода $350,0 \text{ см}^3/\text{м}^2$ и экспозиции 30 минут. Эффективность дезинфекции контролировали согласно «Методическим указаниям по контролю качества дезинфекции и санитарной обработке объектов, подлежащих ветеринарно-санитарному надзору» (Минск, 2007).

При получении удовлетворительных результатов после обработки формировались группы телят на доращивание возрастом 1,5–2 месяца и размещались в обработанных помещениях.

Опыт по аэрозольной санации в присутствии телят проводили в течение 60 дней 0,25%-ным рабочим раствором дезинфицирующего средства «Альдечас» из расчета $10 \text{ см}^3/\text{м}^3$ генератором холодного тумана при отключенной вентиляции, закрытых окнах и дверях, экспозиция 30 минут. Обработку вели по следующей схеме: при комплектовании групп – 3 дня подряд, в дальнейшем, как только нормативный уровень количества микроорганизмов превышал допустимые показатели, проводилась очередная обработка, а именно 1 раз в 7 дней. Контрольные помещения обрабатывали дезинфицирующим средством «Вирутек» (Россия) согласно инструкции. Для определения количества микроорганизмов на слизистой оболочке носа у телят в течение опыта отбирались смывы.

На втором этапе для проведения опыта по профилактике гнойно-некротических поражений копытцев было сформировано 2 группы животных по 54 головы в каждой. В опытной группе обработку проводили путем прогона коров через ванны с дезинфицирующим средством «Альдечас» в 0,3%-ной концентрации, в контрольной – общепринятым методом (путем прогона через ванну с медным купоросом).

Перед началом опыта провели обследования копытного рога и состояния мягких тканей копытцев (венчика, каймы, межкопытной щели, подошвы и др.) у коров опытной и контрольной групп; учитывали деформацию рога, наличие первичных травм в форме наминов, трещин, ран и

гнойно-некротических осложнений, сопровождающихся болезненностью, припухлостью, отеком дистальных отделов конечностей, отсложкой и гнилостным распадом рога, появлением зловонного запаха, хромотой. Учитывали общее клиническое состояние животных.

Профилактическую эффективность препарата оценивали по состоянию копытцев в опытной и контрольной группах животных: проценту вновь возникших гнойно-некротических осложнений и излечиваемости старых воспалительных очагов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При проведении опытов по эффективности дезинфекции в условиях хозяйств установлено, что изначально, до обработки дезинфицирующими препаратами, на поверхностях исследуемых объектов опытного и контрольного помещений микробная обсемененность была равнозначной, с незначительными колебаниями. Так, на поверхности пола было выделено 130000–40000 КОЕ/см², стен – 79000–80800, кормушек 74000–75000, поилок – 82100–83000. Выделенные культуры микроорганизмов (смывы с пола, кормушек) при постановке биопробы были патогенными для лабораторных животных (таблица 1).

После проведения дезинфекции методом орошения, экспозиция 30 минут, наблюдалось снижение общего числа микробов на поверхностях: пола – в 9 раз, стен – в 9,5, кормушек – в 7,7, поилок – в 8 раз по сравнению с первоначальными значениями, в контрольных образцах – соответственно в 7,4, 6,7, 6,5 и 5,6 раза. При контроле качества дезинфекции рост санитарно-показательных микробов отсутствовал, что свидетельствует об удовлетворительном качестве проведенной дезинфекции.

После проведения контроля качества дезинфекции и получения удовлетворительных результатов в чистых обработанных помещениях размещали телят. Вели ежедневный бактериологический контроль по общей микробной обсемененности воз-

духа седиментационным методом и при регистрации содержания микробов выше нормативных показателей проводили очередную дезинфекцию. Аэрозольную дезинфекцию помещений в присутствии телят про-

водили 0,25%-ным раствором средства «Альдечас» при норме расхода 10 см³/м³ с использованием аэрозольного генератора типа «Циклон», экспозиция 30 минут. Длительность опыта – 60 дней.

Таблица 1. – Бактериологические исследования смывов в помещении для содержания телят до и после дезинфекции средством «Альдечас» методом орошения

Исследуемые объекты	Общая микробная обсемененность (КОЕ/см ²)				
	до обработки	после обработки			
		экспозиция 30 мин	рост СПМ	экспозиция 24 ч	рост СПМ
Обработка средством «Альдечас»					
Пол	140000±4500*	15400±900	-	800±100	-
Стена	80800±2300	8500±600	-	600±80	-
Кормушки	74000±4100*	9600±800	-	200±40	-
Поилки	82100±1100	10200±500	-	300±40	-
Обработка средством «Вирутек»					
Пол	130000±5500*	17500±1500	-	3100±300	-
Стена	79000±5400	11300±1540	-	1300±120	-
Кормушки	75000±7300	11584±1530	-	900±60	-
Поилки	83000±7200	13850±1270	-	600±30	-

Примечание – *выделенные культуры патогенны для лабораторных животных; СПМ – санитарно-показательные микробы

При проведении аэрозольной санации помещений в присутствии телят установлено (таблица 2), что общая микробная обсемененность воздуха опытного помещения через 48 часов после размещения телят составляла 54000±2300 КОЕ/м³ (нормативный показатель для данной группы – до 50000 КОЕ/м³), что дало нам основание для проведения дезинфекции. Через 7 суток после второй дезинфекции количество микробов незначительно, но превышало нормативный уровень и составляло 51400±1900 КОЕ/м³.

Дальнейшие бактериологические исследования воздуха показали, что после обработки микробный фон сохранялся на допустимом уровне в течение 6 дней. На 7-й день отмечалось незначительное превышение данного норматива, что дало нам основание для проведения очередной де-

зинфекции. Применение аэрозолей в присутствии животных каких-либо нарушений и отклонений в их физиологическом состоянии не вызывало. Телята были подвижными, хорошо поедали корм и пили воду, патологических аномалий со стороны респираторных органов отмечено не было. В течение 2 месяцев аэрозольных обработок отмечали снижение случаев заболевания телят с признаками патологии дыхательной системы.

Таким образом, нами было установлено, что проведение аэрозольных обработок помещений в присутствии животных следует проводить 1 раз в 7 дней с целью поддержания уровня микробной обсемененности помещения в пределах нормативных показателей для данного вида и возраста животных.

Таблица 2. – Результаты бактериологических исследований воздуха в помещениях для содержания телят до и после аэрозольной обработки средством «Альдечас»

Показатели	До обработки, при формировании групп	Количество КОЕ при соответствующих экспозиция (часы)									
		дезинфекция									
		первая		вторая				третья		четвертая	
		24	48	48	96	144	168	96	168	96	168
ОМЧ опыт	76300±3100	16300±9500	54000±2300	11800±900	34400±6500	45300±4800	51400±1900	28200±1700	48500±3400	18100±2500	49000±100
ОМЧ контроль	75800±7300	18900±960	59800±400	14800±700	38500±3200	48900±4100	54700±3200	30900±1200	51400±2300	21800±980	51400±200
Патогенность опыт	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Патогенность контроль	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание – ОМЧ – общее микробное число, (-) – выделенная культура не патогенна

До обработки у телят опытной группы количество микроорганизмов из смывов со слизистой оболочки верхних дыхательных путей в среднем составило 107200 КОЕ/см². Через 24 часа после разовой обработки средством «Альдечас» этот показатель находился на уровне

75400 КОЕ/см², после 3 обработок – 38700, в конце опыта – 24400 соответственно. В контрольной группе количество микробов в смывах из носовой полости составляло 110400, 80100, 58200 и 49400 КОЕ/см² соответственно (таблица 3).

Таблица 3. – Результаты бактериологических исследований смывов из носовой полости телят при аэрозольной дезинфекции средством «Альдечас»

Время отбора проб	ОМЧ, КОЕ/м ³		КМ, КОЕ/м ³		БГКП, КОЕ/м ³		Грибы, КОЕ/м ³		
	опыт	контр.	опыт	контр.	опыт	контр.	опыт	контр.	
До обработки	107200±9500	110400±5650	58100±6100*	52700±3800*	3500±600*	2500±600*	361700 ± 1800	37700 ± 2600	
Через (часов) с начала опыта	24	75400±3500	80100±6500	11200±1000*	14700±1300*	700±20	900±20	12900±3700	15200±1200
	96	38700±1600	65100±3600	14300±1700	17100±2100*	100±0	300±10	16300±7300	19800±4200
	168	43800±5600	58200±5600	9500±1000	11100±1200	100±0	200±10	9700±200	10300±900
Через (дней) с начала опыта	30	24400±2500	52200±500	1400±100	2600±230	-	-	1800±90	4100±500
	60	26800±1200	49400±1500	-	400±20	-	-	-	700±10

Примечание – ОМЧ – общее микробное число, БГКП – бактерии группы кишечной палочки, КМ – кокковая микрофлора, (*) – патогенная культура

На дифференциальных средах до обработки помещения из смывов носовой полости выделяли грибы, кишечную палочку, протей и кокковую микрофлору. Через 24 часа после первой обработки препаратом

выделяли кокковую микрофлору (патогенные), после 3-й обработки выделяемая микрофлора не была патогенной для белых мышей. Падежа за период проведения испытаний не наблюдалось.

В опыте по обработке копытцев крупного рогатого скота установлено, что при еженедельной одноразовой обработке в течение 1 месяца путем прохождения коров через ванны с рабочим 0,3%-ным раствором средства дезинфицирующего «Альдечас» новых гнойно-некротических поражений копытцев у животных опытной группы не наблюдалось, тогда как в контрольной группе такие поражения возникли у 11 % голов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Общая микробная обсемененность поверхностей помещений для содержания крупного рогатого скота, а также количество микроорганизмов в воздухе в присутствии животных без проведения обработок дезинфицирующими средствами к концу технологического периода содержания выше нормативных показателей. При содержании животных присутствует микробный прессинг, что требует соответствующих обработок воздуха дезинфицирующими средствами.

Обработка животноводческих помещений (телятников) и находящегося в них технологического оборудования путем крупнокапельного орошения поверхностей 0,25%-ным раствором при норме расхода 350,0 см³/м² и экспозиции 30 минут снижала общую микробную обсемененность поверхностей помещения в 7,7–9,5 раз.

При контроле качества дезинфекции рост санитарно-показательных тест-микробов отсутствовал, что свидетельствует об удовлетворительном качестве проведенной дезинфекции.

Аэрозольная обработка помещения в присутствии животных 0,25%-ным рабочим раствором средства «Альдечас» из расчета 10 см³/м³ с использованием генератора холодного тумана «Циклон» 1 раз в неделю на протяжении постановки опыта (60 дней) способствовала снижению условно-патогенной и патогенной микрофлоры в воздухе и позволяла поддерживать уровень микробной обсемененности воздуха в пределах нормативных показателей для данного вида и возраста животных.

До санации помещений из смывов из носовой полости подопытных телят выделяли грибы, кишечную палочку (патогенные), протей и кокковую микрофлору (патогенные). После обработки дезинфицирующим средством «Альдечас» количество выделяемой микрофлоры по окончании опыта снижалось в 4 раза (в контроле в 2 раза), выделяемые культуры не были патогенными.

Для профилактики гнойно-некротических поражений копытцев у крупного рогатого скота используются ванны с рабочим 0,3%-ным раствором средства 1 раз в 7 дней в период массовых заболеваний копыт.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутко, М.П. Альтернатива традиционным дезинфицирующим средствам / М.П. Бутко, В.С. Тиганов, В.С. Фролов // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2012. – № 1 (7). – С. 34–36.
2. Коренник, И.В. Современные аспекты гигиены в молочном животноводстве / И.В. Коренник // Ветеринария Кубани. – 2012. – № 2. – С. 21–23.
3. Мирошникова, А.И. Экологически безопасные средства дезинфекции животноводческих объектов / А.И. Мирошникова, И.В. Киреев // Научно-техническое творчество молодежи – путь к обществу, основанному на знаниях: сб. докладов VI Междунар. науч.-практ. конф., Москва, 25–27 июня 2014 г. / М-во образования и науки Российской Федерации, Моск. гос. строит. ун-т. – Москва: МГСУ, 2014. – С. 449–453.
4. Носкова, А.В. Новые дезинфицирующие средства / А.В. Носков // Ветеринария. – 2009. – № 9. – С. 43–45.
5. Ветеринарная дезинфекция на службе страны / Н.И. Попов [и др.] // Ветеринария. – 2005. – № 10. – С. 11–14.
6. Попов, Н.И. Дезинфекция бактерицидными пенами при туберкулезе / Н.И. Попов, П.В. Чеснокова // Ветеринарная патология. – 2007. – № 3 (22). – С. 231–235.
7. Прокопенко, А.А. Технология применения УФ-облучателей – рециркуляторов повышенной эффективности для обеззараживания воздуха в цехах мясокомбинатов / А.А. Прокопенко // Пробле-

мы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2013. – № 2 (10). – С. 43–46.

8. Смирнов, А.М. Роль ветеринарно-санитарной науки в обеспечении благополучия животноводства / А.М. Смирнов // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2009. – № 1. – С. 7–19.

9. Дезинфицирующие средства на основе четвертичных аммониевых соединений / И.И. Тарасова [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2012. – № 6. – С. 48–49.

10. Худяков, А.А. Эффективная дезинфекция и подбор дезинфектанта / А.А. Худяков // Ветеринария. – 2010. – № 2. – С. 18–22.

11. Четвертичные аммониевые соли как активно действующая основа при создании дезинфицирующих препаратов / А.Е. Эпштейн [и др.] // Дезинфекция и стерилизация. Перспективы развития. – Волгоград. – 1983. – 35 с.

УДК 636.22/28:636.082.0339(476.6)

Гудзь В.П., кандидат ветеринарных наук

Белявский В.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент

УО «Гродненский государственный аграрный университет», г. Гродно

КРИТИЧЕСКИЕ КОНТРОЛЬНЫЕ ТОЧКИ В УСЛОВИЯХ МОЛОЧНО-ТОВАРНОГО КОМПЛЕКСА

Резюме

Проведены исследования по определению механизма и результатов управления критическими контрольными точками при производстве молока в условиях молочно-товарного комплекса. Установлено, что их применение позволило уменьшить производство молока, несоответствующего установленным требованиям СТБ, повысить объемы и качество реализуемого молока, уменьшить количество случаев снижения качества молока при приемке на молокоперерабатывающем предприятии.

Summary

Studies have been carried out to determine the mechanism and results of managing critical control points in the production of milk under the conditions of a dairy-commodity complex. It has been established that their use has made it possible to reduce the production of inappropriate milk, to increase the volume and quality of milk sold, to reduce the number of cases of a decrease in the quality of milk when accepted at a milk-processing enterprise.

Поступила в редакцию 09.12.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Обеспечение качества и безопасности продуктов питания является одной из самых важных государственных задач, от решения которой зависят продовольственная безопасность страны, здоровье нации и конкурентоспособность отечественной пищевой продукции на мировом рынке [3, 8].

При осуществлении процессов производства (изготовления) пищевой продукции, связанных с требованиями ее безопасности, изготовитель должен разработать, внедрить и поддерживать процедуры, основанные на принципах НАССР – Hazard

Analysis and Critical Control Points [10].

Требования системы НАССР, являясь составной частью стандартов 22000, предназначены для применения всеми организациями пищевой цепи, начиная с производства сельскохозяйственной продукции и далее по всей цепочке – до момента потребления: «от фермы – к столу» [7].

Особую актуальность проблеме придает тот факт, что отсутствие процедур, основанных на принципах НАССР, на одном из этапов жизненного цикла продукта увеличивает статистическую неопределенность безопасности конечной продукции

настолько, что риск обнаружения опасного фактора может достигать 50 % [1].

Целью нашей работы было установить механизм и эффективность управления критическими контрольными точками при производстве молока в условиях молочно-товарного комплекса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили на молочно-товарном комплексе «Павлово» филиала «Павлово-Агро» ОАО «Слонимский мясокомбинат» Слонимского района Гродненской области. Материалы для исследований – молоко, технологические процессы его производства и учетно-отчетная документация.

Для определения эффективности менеджмента безопасности продукции, его влияния на качество и безопасность реализуемого молока определяли этапы и осуществляли реализацию менеджмента безопасности, основанного на принципах НАССР, в 2018 году. По итогам 2018 года устанавливали количество поставленного молока по сортам, количество случаев и причины снижения сортности молока, а также количество случаев, объем возвращенного молока и причины его несоответствия требованиям СТБ 1598-2006 «Молоко коровье. Требования при закупках». Результаты 2018 года, полученные в период применения процедур, основанных на принципах НАССР, сравнивали с показателями, полученными в 2017 году.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведенный по итогам 2017 года анализ рисков показал, что основным проблемным показателем, определяющим качество молока, характеризующим его безопасность, а также продуктивность и здоровье дойного стада, является высокое содержание в нем соматических клеток. На 2018 год в качестве этапов для реализации менеджмента безопасности, основанного на анализе опасностей и критических контрольных точек, нами были определены следующие критические контрольные точки (далее – ККТ): № 1 – формирование дойного стада; № 2 – доение коров; № 3 – хранение молока и № 4 – отправка молока для промышленной переработки.

ККТ № 1. Формирование дойного стада

Опасные факторы: 1. Биологический – патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, соматические клетки. 2. Химический – остаточные количества антибиотиков.

Контролируемые параметры и их предельные значения:

1. Контроль молока от поступающих на комплекс лактирующих коров на наличие мастита и соматических клеток (таблица 1).

Проведение двукратных лабораторных бактериологических исследований молока. Не допускается наличие стрептококков групп А, В, Е, С, патогенных стафилококков или других видов патогенных бактерий.

Таблица 1. – Результаты исследований экспресс-тестом KerbaTest

Изменение консистенции пробы	Результат (по каждой доле вымени)	Количество соматических клеток в 1 мл молока
жидкость однородная, водянистая	отрицательный (-), отсутствие мастита	менее 200000
в целом однородная смесь; появляется незначительная вязкость, которая быстро исчезает	сомнительный (+/-), есть риск наличия мастита	от 200000 до 500000
образование мягкого сгустка	положительный (+)	от 400000 до 5000000
плотный сгусток, прилипающий ко дну лунки	строго положительный (+++)	более 5000000

2. Контроль молока от лактирующих коров на наличие субклинических маститов и соматических клеток (таблица 1).

3. Контроль молока от выздоровев-

ших коров, подвергавшихся лечению антибиотиками, на наличие их остаточных количеств (таблица 2).

Таблица 2. – Контролируемые антибиотики

Ветеринарное лекарственное средство (фармакологически активное вещество)	Максимально допустимые уровни остатков (по индикаторной молекуле) или метаболитов (мг/кг, не более)
Ампициллин	0,004
Амоксициллин	0,004
Клоксациллин	0,03
Цефепим	0,01
Цефкином	0,02
Цефалексин	0,1
Стрептомицин	не допускается (<0,2)
Пенициллин-G	не допускается (<0,004)
Хлортетрациклин	не допускается (<0,01)
Окситетрациклин	не допускается (<0,01)
Тетрациклин	не допускается (<0,01)
Доксициклин	не допускается (<0,01)
Левомецетин	не допускается (<0,0003)

Процедура и периодичность мониторинга: 1. Контроль молока от поступающих на комплекс лактирующих коров с помощью экспресс-теста KerbaTest – от каждого животного перед переводом в основное стадо. 2. Отбор проб молока и направление в районную ветеринарную лабораторию (диагностический отдел райветстанции) для бактериологических исследований – двукратно с интервалом 20 дней от каждого животного перед переводом в основное стадо. 3. Контроль молока от лактирующих коров с помощью экспресс-теста KerbaTest – каждое животное через 7 дней после отела и за 10 дней до запуска, а также 1 раз в 10 дней. 4. Контроль молока от выздоровевших коров, подвергавшихся лечению антибиотиками, на наличие их остаточных количеств с помощью тест-набора «4Sensor» – от каждого животного перед переводом в основное стадо [2, 5, 6].

Ответственный за мониторинг – ветеринарный врач комплекса.

Регистрационно-учетные документы: 1. Журнал учета заболеваний, отхода и ветеринарной обработки животных в карантине и изоляторе. 2. Журнал регистрации

больных животных, акты исследований молока на наличие остаточных количеств антибактериальных ветеринарных препаратов. 3. Журнал регистрации актов отбора проб и результатов бактериологических испытаний молока, акты и протоколы. 4. Журнал регистрации исследований молока на субклинические маститы, акты проведения исследований.

Место хранения – кабинет ветеринарного врача комплекса.

Меры контроля: 1. Обучение ответственных за мониторинг ККТ. 2. Соответствие квалификации персонала. 3. Техническое обслуживание помещений для содержания животных, загонов (расколов), инструментария, приборов и оборудования.

Коррекции и корректирующие действия. 1. При получении сомнительного результата экспресс-теста KerbaTest в период карантинирования информируются начальник комплекса и главный ветеринарный врач, животное берется под наблюдение, через 3 дня проводится повторное исследование. При получении положительного или строго положительного результата экспресс-теста KerbaTest в пе-

риод карантинирования информируется главный ветеринарный врач и начальник комплекса, животное помещается в изолятор и подвергается лечению. 2. При выявлении патогенных микроорганизмов в пробе молока информируются главный ветеринарный врач и начальник комплекса, животное помещается в изолятор и подвергается лечению. 3. При получении сомнительного результата экспресс-теста KerbaTest молока коров основного стада животное берется под наблюдение с проведением повторного исследования на следующий день. При получении положительного или строго положительного результата экспресс-теста KerbaTest молока коров основного стада животное изолируется и подвергается лечению. 4. При выявлении наличия остаточных количеств антибиотиков в молоке выздоровевших коров период ожидания продлевается с последующим контролем через 12–24 часа.

Устанавливаются причины несоответствий, принимаются меры по их устранению и недопущению возникновения аналогичных случаев в дальнейшем.

Ответственные за коррекции и корректирующие действия – ветеринарный врач комплекса, зоотехник комплекса.

Регистрационно-учетные документы: 1. Журнал учета заболеваний, отхода и ветеринарной обработки животных в карантине и изоляторе. 2. Журнал регистрации больных животных. 3. Журнал регистрации актов отбора проб и результатов бактериологических испытаний молока. 4. Журнал регистрации исследований молока на субклинические маститы.

Место хранения – кабинет ветеринарного врача комплекса.

Верификация записей по мониторингу. Главный ветеринарный врач – 1 раз в неделю в Журнале учета заболеваний, отхода и ветеринарной обработки животных в карантине и изоляторе, Журнале регистрации больных животных, Журнале регистрации актов отбора проб и результатов бактериологических испытаний молока, Журнале регистрации исследований молока на субклинические маститы.

ККТ № 2. Доение коров

Опасные факторы: 1. Биологический – патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, соматические клетки. 2. Химический – остаточные количества моющих и дезинфицирующих средств.

Контролируемые параметры и их предельные значения:

1. Контроль сливной воды после промывки доильных аппаратов и молокопровода на наличие остаточных количеств моющих и дезинфицирующих средств. Наличие их в сливной воде не допускается. При наличии щелочи – окрашивание лакмусовой бумаги в синий цвет, при наличии кислоты – в малиновый цвет.

2. Контроль величины вакуума в системе доильной установки (в норме 42–43 кПа) и частоты пульсаций доильных аппаратов (в норме 60±3 пульсов в минуту).

3. Контроль консистенции молока и состояния вымени при сдаивании первых 2–3 струек с каждой доли в специальную кружку для сдаивания. Не допускается выделение с молоком творожистых сгустков, крови или гноя, а также покраснений, отечности, болезненности вымени.

Процедура и периодичность мониторинга: 1. Контроль сливной воды после промывки доильных аппаратов и молокопровода на наличие остаточных количеств моющих и дезинфицирующих средств с помощью индикаторной лакмусовой бумаги – перед каждым доением. 2. Контроль величины вакуума в системе доильной установки с помощью вакуумметра – перед каждым доением и не менее 2 раз во время доения. Контроль частоты пульсаций доильных аппаратов с помощью часов с секундомером – перед каждым доением. 3. Контроль консистенции молока и состояния вымени при сдаивании первых 2–3 струек из каждой доли с помощью специальной кружки для сдаивания – перед каждым доением животного [2, 5].

Ответственные за мониторинг – оператор машинного доения, зоотехник комплекса, ветеринарный врач комплекса.

Регистрационно-учетные документы: 1. Журнал технического осмотра до

ильного оборудования. 2. Журнал регистрации больных животных. 3. Журнал проведения мойки и дезинфекции доильного оборудования.

Место хранения – кабинет начальника и ветеринарного врача комплекса.

Меры контроля: 1. Обучение ответственных за мониторинг ККТ. 2. Соответствие квалификации персонала. 3. Техническое обслуживание доильного оборудования, загонов, инструментария, приборов.

Коррекции и корректирующие действия. 1. При выявлении в сливной воде остаточных количеств моющих и дезинфицирующих средств информируется начальник комплекса, осуществляется повторная промывка доильного оборудования до получения положительного результата теста. 2. При выявлении отклонений величины вакуума и частоты пульсаций информируется начальник комплекса, проводится ремонт или регулировка оборудования. 3. При выделении с молоком творожистых сгустков, крови или гноя, а также покраснений, отечности, болезненности вымени информируются ветеринарный врач комплекса, главный ветеринарный врач и начальник комплекса. Проводится доение животного в специальный бачок, по окончании доения оператор тщательно моет и дезинфицирует руки, а доильную аппаратуру и посуду, в которую сливалось молоко, подвергают мойке и дезинфекции. Клинически больное маститом животное выделяют в отдельную группу и подвергают лечению. Молоко из пораженных четвертей вымени подлежит уничтожению после кипячения. Молоко из непораженных четвертей вымени подвергают термическому обеззараживанию (пастеризация 20 с при температуре 76 °С) и используют для кормления телят.

Устанавливаются причины несоответствий, принимаются меры по их устранению и недопущению возникновения аналогичных случаев в дальнейшем.

Ответственные за коррекции и корректирующие действия – начальник комплекса, ветеринарный врач комплекса, зоотехник комплекса, оператор машинного доения.

Регистрационно-учетные документы: 1. Журнал технического осмотра доильного оборудования. 2. Журнал регистрации больных животных. 3. Журнал проведения мойки и дезинфекции доильного оборудования.

Место хранения – кабинет начальника и ветеринарного врача комплекса.

Верификация записей по мониторингу. Главный ветеринарный врач – 1 раз в неделю в Журнале регистрации больных животных, Журнале проведения мойки и дезинфекции доильного оборудования. Главный зоотехник – 1 раз в неделю в Журнале технического осмотра доильного оборудования.

ККТ № 3. Хранение молока

Опасный фактор: 1. Биологический – патогенные и условно-патогенные микроорганизмы.

Контролируемые параметры и их предельные значения:

1. Контроль охлаждения молока после доения до температуры 4 ± 2 °С в течение не более 2 ч.

2. Контроль хранения сырого молока при температуре 4 ± 2 °С до его отгрузки.

Процедура и периодичность мониторинга: 1. Контроль с помощью электронного термометра охлаждения молока в холодильнике после доения – через каждые 30 мин до достижения температуры молока 4 ± 2 °С. 2. Контроль температуры сырого молока при хранении с помощью электронного термометра – через каждые 2 ч до его отгрузки [4; 9].

Ответственный за мониторинг – зоотехник комплекса.

Регистрационно-учетные документы: Журнал контроля термического состояния молока при хранении.

Место хранения – кабинет начальника комплекса.

Меры контроля: 1. Обучение ответственных за мониторинг ККТ. 2. Соответствие квалификации персонала. 3. Тех-

ническое обслуживание холодильного и доильного оборудования, инструментария, приборов.

Коррекции и корректирующие действия. 1. При выявлении отклонений в режиме охлаждения молока после доения информируется начальник комплекса, осуществляется регулировка режима охлаждения и/или ремонт холодильного оборудования. 2. При обнаружении отклонений в температуре сырого молока при хранении информируется начальник комплекса, осуществляется регулировка режима охлаждения и/или ремонт холодильного оборудования, экстренная отгрузка молока на молокоперерабатывающее предприятие для его немедленной переработки.

Устанавливаются причины несоответствий, принимаются меры по их устранению и недопущению возникновения аналогичных случаев в дальнейшем.

Ответственные за коррекции и корректирующие действия – начальник комплекса, зоотехник комплекса.

Регистрационно-учетные докумен-

ты: 1. Журнал технического осмотра холодильного оборудования. 2. Журнал контроля термического состояния молока.

Место хранения – кабинет начальника комплекса.

Верификация записей по мониторингу. Главный зоотехник – 1 раз в неделю в Журнале технического осмотра холодильного оборудования и в Журнале контроля термического состояния молока.

ККТ № 4. Отправка молока для промышленной переработки

Опасные факторы: 1. Биологический – патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, соматические клетки. 2. Химический – остаточные количества антибиотиков.

Контролируемые параметры и их предельные значения:

1. Контроль температуры отгружаемого охлажденного молока – 4 ± 2 °С.

2. Контроль отгружаемого молока на наличие остаточных количеств антибиотиков (таблица 3).

Таблица 3. – Контролируемые антибиотики

Ветеринарное лекарственное средство (фармакологически активное вещество)	Максимально допустимые уровни остатков (по индикаторной молекуле) или метаболитов (мг/кг, не более)
Ампициллин	0,004
Амоксициллин	0,004
Клоксациллин	0,03
Цефепим	0,01
Цефтриаксон	0,02
Цефалексин	0,1
Стрептомицин	не допускается (< 0,2)
Пенициллин-Г	не допускается (< 0,004)
Хлортетрациклин	не допускается (< 0,01)
Окситетрациклин	не допускается (< 0,01)
Тетрациклин	не допускается (< 0,01)
Доксициклин	не допускается (< 0,01)
Левомецетин	не допускается (< 0,0003)

3. Контроль соответствия отгружаемого молока по содержанию соматических клеток (таблица 4).

Таблица 4. – Показатели количества соматических клеток в молоке

Наименование показателя	Сорт «экстра»	Высший сорт	Первый сорт	Непригодное для пищевых целей
Количество соматических клеток в 1 см ³	≤300000	≤400000	≤500000	>500000

Процедура и периодичность мониторинга: 1. Контроль температуры отгружаемого сырого охлажденного молока с помощью электронного термометра – каждую партию молока перед отгрузкой на молокоперерабатывающее предприятие. 2. Контроль отгружаемого молока на наличие остаточных количеств антибиотиков с помощью тест-набора «4Sensor» – каждую партию молока перед отгрузкой на молокоперерабатывающее предприятие. 3. Контроль отгружаемого молока на содержание соматических клеток с помощью вискозиметрического анализатора молока «Соматос-Мини» – каждую партию молока перед отгрузкой на молокоперерабатывающее предприятие [4, 6, 9].

Ответственные за мониторинг – ветеринарный врач комплекса, зоотехник комплекса.

Регистрационно-учетные документы: 1. Журнал контроля соответствия молока, отгружаемого для промышленной переработки. 2. Копии удостоверений качества и безопасности продовольственного сырья, пищевых продуктов и товарно-транспортных накладных.

Место хранения – кабинет начальника комплекса.

Меры контроля: 1. Обучение ответственных за мониторинг ККТ. 2. Соответствие квалификации персонала. 3. Техническое обслуживание холодильного и доильного оборудования, инструментария, приборов.

Коррекции и корректирующие действия. 1. При выявлении при отгрузке отклонений в термическом состоянии молока отгрузка приостанавливается, информируется начальник комплекса и главный ветеринарный врач, осуществляются регулировка режима охлаждения и/или ремонт холодильного оборудования для достижения необходимой температуры молока. При необходимости – экстренная отгрузка молока на молокоперерабатывающее предприятие для его немедленной переработки. 2. При обнаружении остаточных количеств антибиотиков в отгружаемой партии молока отгрузка приостанавливается, информи-

руются начальник комплекса и главный ветеринарный врач, партия молока направляется на утилизацию путем скармливания непродуктивным животным. 3. При выявлении в отгружаемой партии молока соматических клеток в количестве более 500000 в 1 см³ отгрузка приостанавливается, информируются начальник комплекса и главный ветеринарный врач, партия молока направляется на утилизацию путем скармливания телятам после предварительного термического обеззараживания (пастеризация 20 с при температуре 76 °С).

Устанавливаются причины несоответствий, принимаются меры по их устранению и недопущению возникновения аналогичных случаев в дальнейшем.

Ответственные за коррекции и корректирующие действия – начальник комплекса, ветеринарный врач комплекса, зоотехник комплекса.

Регистрационно-учетные документы: Журнал контроля соответствия молока, отгружаемого для промышленной переработки. 2. Копии удостоверений качества и безопасности продовольственного сырья, пищевых продуктов и товарно-транспортных накладных.

Место хранения – кабинет начальника комплекса.

Верификация записей по мониторингу. Главный ветеринарный врач – 1 раз в неделю в Журнале контроля соответствия молока, отгружаемого для промышленной переработки.

По результатам применения в 2018 году процедур, основанных на принципах НАССР, установлено, что реализация молока сорта «экстра» на молокоперерабатывающее предприятие составила 2873008,5 кг, или 66,68 % от всего объема реализованного молока, в то время как в 2017 году было произведено и реализовано молока сорта «экстра» лишь 16472,7 кг, или 0,5 %. При этом молока высшего сорта в 2018 году было реализовано 1435583 кг, что на 50,64 % меньше, чем в 2017 году. Производства и реализации молока первого сорта в 2018 году не отмечали, в то время как в 2017 году его было произведено и реализовано

зовано 38455,6 кг, или 11,89 % от общего объема реализованного молока.

В 2018 году был отмечен 1 случай снижения сортности молока. Партия молока в количестве 11600 кг была переведена из сорта «экстра» в высший по содержанию соматических клеток. Для сравнения в 2017 году было зарегистрировано 13 случаев снижения сортности молока при его приемке на молокоперерабатывающем предприятии. Из сорта «экстра» в высший сорт переведено 2 партии молока объемом 10240 кг. Из высшего сорта в первый переведено 11 партий молока в количестве 42270 кг. При этом причиной всех случаев снижения сортности молока в 2017 году было повышенное содержание соматических клеток.

В 2018 году отмечено в 4 раза меньше случаев выявления при приемке на молокоперерабатывающем предприятии молока, несоответствующего установленным требованиям СТБ. Так, в 2018 году отмечен 1 случай признания партии молока непригодной для пищевых целей по причине об-

наружения остаточных количеств антибиотиков с последующей ее утилизацией. Возвращено и направлено на утилизацию 6600 кг молока, что в 3,45 раза меньше, чем в 2017 году. В 2017 году было выявлено 4 партии молока, несоответствующего требованиям СТБ, в количестве 22780 кг по причине высокого содержания соматических клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, можно сделать вывод, что использование менеджмента безопасности продукции, основанного на анализе рисков и критических контрольных точек, позволяет сконцентрировать ресурсы организации на критических этапах технологического процесса, повысить безопасность поставляемого на молокоперерабатывающее предприятие молока, увеличить количество и качество реализуемого молока, минимизировать случаи снижения качества молока при приемке на молокоперерабатывающем предприятии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александровская, Л.Н. Эффективность ХАССП / Л.Н. Александровская, О.М. Розенталь, В.Н. Суряков // *Методы оценки соответствия*. – 2009. – № 7. – С. 26–28.
2. *Ветеринарно-санитарные правила содержания дойных животных и получения молока на молочно-товарных фермах: утв. постановлением МСХиП РБ 29.01.2019 г. № 10.*
3. Жашков, А.А. Предпосылки внедрения системы ХАССП на отечественных предприятиях / А.А. Жашков, Н.Л. Клейменова // *Экономика. Инновации. Управление качеством*. – 2013. – № 4. – С. 75–78.
4. *Молоко коровье сырое. Технические условия: СТБ 1598-2006. – Введ. 31.01.2006. – Минск: БелГИСС, 2006. – 14 с.*
5. *Организационно-технологические требования при производстве молока на молочных комплексах промышленного типа: республиканский регламент / И.В. Брыло [и др.]; МСХиП РБ. – Минск. – 2014. – 108 с.*
6. *Решение Коллегии ЕЭК от 13.02.2018 № 28 «О максимально допустимых уровнях остатков ветеринарных лекарственных средств (фармакологически активных веществ), которые могут сохраняться в переработанной пищевой продукции животного происхождения, в том числе в сырье, и методиках их определения».*
7. *Системы менеджмента безопасности пищевых продуктов. Требования к организациям, участвующим в пищевой цепи: СТБ 22000-2006. – Введ. 16.10.2006. – Минск: БелГИСС, 2006. – 29 с.*
8. Толстова, Е.Г. Система ХАССП как методологическая основа обеспечения безопасности продуктов питания / Е.Г. Толстова // *Вестник БГАУ*. – 2014. – № 1. – С. 130–133.
9. *ТР ТС 033/2013. О безопасности молока и молочной продукции / Евразийская экономическая комиссия. – Введ. 01.05.2014. – Минск: Госстандарт: БелГИСС, 2013. – 92 с.*
10. *ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции / Евразийская экономическая комиссия. – Введ. 01.07.2013. – Минск: Госстандарт: БелГИСС, 2012. – 196 с.*

СВЕТЛОЙ ПАМЯТИ АНТОНЮКА ВИТАЛИЯ СТЕПАНОВИЧА

(к 80-летию со дня рождения)



В наше быстро текущее и стремительно меняющееся время мы отмечаем 80 лет со дня рождения Виталия Степановича Антонюка – академика Академии аграрных наук Республики Беларусь, члена-корреспондента Украинской академии аграрных наук, доктора биологических наук, профессора.

В.С. Антонюк родился 10 октября 1939 г. в г. Кременчуг. Окончил в 1962 г. Витебский ветеринарный институт. Вначале работал зоотехником-селекционером Чарышской, затем – старшим зоотехником Каменской госплемстанции Алтайского края. В Республике Беларусь работал директором Несвижской госплемстанции, после этого – старшим зоотехником Минского областного управления сельского хозяйства.

Учитывая неординарные организаторские способности и глубокие знания агропромышленного комплекса, в 1969 г. был приглашен работать в ЦК КП Беларуси вначале в качестве инструктора, затем – заведующего сектором научно-исследовательских учреждений и учебных заведений сельскохозяйственного отдела.

В 1974–1987 гг. являлся директором БелНИИ животноводства. С 1987 г. был заведующим кафедрой биологических основ сельского хозяйства БелНИИ механизации и электрификации сельского хозяйства.

В 1991 г. В.С. Антонюк назначается заместителем министра сельского хозяйства и продовольствия БССР и одновременно – начальником главного управления науки и аграрного образования, председателем Белорусского отделения ВАСХНИЛ.

В 1992 г. В.С. Антонюк избран, а в 1997 г. переизбран президентом Академии аграрных наук Республики Беларусь. Он создал новое направление исследований в области биотехнологии размножения и искусственного разведения животных. Только в этом направлении им опубликовано свыше 70 научных работ, подготовлено восемь докторов и кандидатов наук.

В.С. Антонюк являлся научным руководителем Государственной научно-технической программы «Агропромкомплекс», председателем секции «Сельскохозяйственные науки» Совета по координации фундаментальных исследований в республике.

Виталию Степановичу была присуща глубокая эрудиция, выдающиеся организаторские способности, умение творчески решать проблемы аграрной науки и образования.

В 1986 г. В.С. Антонюк награжден Почетной грамотой Верховного Совета БССР, в 1971 г. – орденом «Знак Почета», он лауреат премии Совета министров СССР 1980 г.

В наших сердцах навечно сохранится память о Виталии Степановиче Антонюке – замечательном человеке, крупном отечественном ученом, преданном патриоте нашей страны.

Якубовский М.В., доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент ААН РБ, лауреат Государственной премии по науке Республики Дагестан РФ