ЭКОЛОГИЯ И ЖИВОТНЫЙ МИР

МЕЖДУНАРОДНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Выпускается с 2006 года

ISSN 2224-1647 Подписной индекс: 74878 748782

Журнал включен в список Высшей аттестационной комиссии (ВАК) Беларуси по отраслям: ветеринарные науки, биологические науки, сельскохозяйственные науки, приказ коллегии ВАК, протокол № 17/7 от 19.06.2008 г.

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

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Жалдыбин В.В. – кандидат ветеринарных наук, доцент

СЕКРЕТАРЬ:

Радюш И.С. – кандидат ветеринарных наук, доцент

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Борисовец Д.С. – кандидат ветеринарных наук, доцент

Згировская А.А. – кандидат биологических наук

Насонов И.В. – доктор ветеринарных наук, профессор

Костюк Н.И. – кандидат ветеринарных наук,

Русинович А.А. – доктор ветеринарных наук, доцент

Бучукури Д.В. – кандидат ветеринарных наук

Мистейко М.М. – кандидат ветеринарных наук, доцент

НАД НОМЕРОМ РАБОТАЛИ:

Ларькова А.Е. Лукьянова И.А. Пунько С.Г.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

ПРЕДСЕДАТЕЛЬ

Лысенко А.П. – доктор ветеринарных наук, профессор (г. Минск)

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

Белова Л.М. – доктор биологических наук, профессор (г. Санкт-Петербург)

Бычкова Е.И. – доктор биологических наук, профессор (г. Минск)

Герасимчик В.А. – доктор ветеринарных наук, профессор (г. Витебск)

Головко А.Н. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик НААН Украины (г. Киев)

Каплич В.М. – доктор биологических наук, профессор (г. Минск)

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

Лысенко Н.П. – доктор биологических наук, профессор (г. Москва)

Пестис В.К. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси (г. Гродно)

Стекольников А.А. – доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН (г. Санкт-Петербург)

Чистенко Г.Н. – доктор медицинских наук, профессор (г. Минск)

Шейко И.П. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик НАН Беларуси (г. Жодино)

Ярыгина Е.И. – доктор биологических наук, профессор (г. Москва)

Все статьи рецензируются

«Экология и животный мир»

При использовании авторами материалов журнала «Экология и животный мир» ссылка на журнал обязательна

СОДЕРЖАНИЕ

Красочко П.А., Курдеко А.П., Жаворонок С.В., Красочко П.П., Борисовец Д.С., Прокопенкова Т.М. ВЗАИМО-СВЯЗЬ ИНФИЦИРОВАННОСТИ СВИНЕЙ ВИРУСОМ ГЕ-ПАТИТА Е С ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

Федотов Д.Н., Кучинский М.П. ВЛИЯНИЕ БИОЭЛЕ-МЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ ХАРАКТЕРИСТИКУ КОРКОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПО-

ЧЕЧНИКОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Каменская Т.Н., Кривенок Л.Л., Лукьянчик С.А. ИЗУЧЕ-НИЕ ОБСЕМЕНЕННОСТИ КРЫЛАТЫХ НАСЕКОМЫХ ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ МИКРООРГАНИЗ- 18 МАМИ И ИХ РОЛЬ В ЭТИОЛОГИИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ МАСТИТА

Тяпша Ю.И., Дубаневич О.В., Андрусевич А.С., Струк М.С., Кучвальский М.В. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДИАГНО-СТИКИ В СИСТЕМЕ КОНТРОЛЯ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ 23 СИТУАЦИИ ПО ПСЕВДОМОНОЗУ В ЗВЕРОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВАХ

Андрусевич А.С., Тяпша Ю.И., Струк М.С., Дубаневич О.В., Толяронок Г.Е. БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙ-СТВА ЭПИЗООТИЧЕСКИХ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS* 27 *AERUGINOSA*

Мироненко В.М., Конахович И.К. ОСОБЕННОСТИ ЭПИ-ЗООТОЛОГИИ МЮЛЛЕРИОЗА ОВЕЦ И КОЗ В РЕСПУБ-ЛИКЕ БЕЛАРУСЬ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ 32 ЕГО ДИАГНОСТИКИ

Насонов И.В., Кныш Н.В., Зинина Н.В., Романовская Н.Б. СРОКИ ВЫВЕДЕНИЯ АМОКСИЦИЛЛИНА ПО-СЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА **38** ЦЫПЛЯТАХ-БРОЙЛЕРАХ

Радчиков В.Ф., Сапсалёва Т.Л., Богданович И.В. ЗОО-ТЕХНИЧЕСКАЯ И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВ-НОСТЬ ВЫРАЩИВАНИЯ ТЕЛЯТ С ВКЛЮЧЕНИЕМ В РАЦИОН ЦЕЛЬНОГО ЗЕРНА КУКУРУЗЫ

Понаськов М.А. СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО И ГУМО-РАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У КОРОВ, ВАКЦИНИРО-ВАННЫХ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННЫХ ПНЕВМОЭНТЕ-РИТОВ

Пунько А.И., Дыба Э.В. АНАЛИЗ КОНСТРУКЦИЙ УСТРОЙСТВ ДЛЯ ВНУТРЕННЕЙ ОЧИСТКИ КОРМО- **53** ВЫХ СИЛОСОВ

Лысенко А.П., Кучвальский М.В., Притыченко А.Н., Красникова Е.Л., Аникевич Н.Ю. КОНТАМИНАЦИЯ 59 ЭМБРИОНАЛЬНЫХ БЫЧЬИХ СЫВОРОТОК ТРАНСФОР-МИРОВАННЫМИ МИКОБАКТЕРИЯМИ ТУБЕРКУЛЕЗА

CONTENTS

Krasochko P.A., Kurdeko A.P., Zhavoronok S.V., Krasochko P.P., Borisovets D.S., Prokopenkova T.M. RELATIONSHIP OF HEPATITIS E PIG INFECTION WITH LIVER DAMAGE

Fiadotau D.N., Kuchinsky M.P. THE INFLUENCE OF BIO-ELEMENTAL PREPARATIONS ON THE MORPHOLOGI-CAL CHARACTERISTICS OF THE ADRENAL CORTIC IN CATTLE

Kamenskaya T.N., Krivenok L.L., Lukyanchik S.A. STUD-YING THE OBSEMINATION OF WINGED INSECTS OF LIVESTOCK OBJECTS WITH MICROORGONISMS AND THEIR ROLE IN THE ETIOLOGY OF MASTITIS

Tsiapsha Y.I., Dubanevich O.V., Andrusevich A.S., Struk M.S., Kuchvalski M.V. THE USE OF MOLECULAR BIOLOGICAL DIAGNOSIS METHODS IN THE CONTROL SYSTEM OF THE EPIZOOTIC SITUATION FOR PSEUDO-MONOSIS IN FUR FARMS

Andrusevich A.S., Struk M.S., Tsiapsha Y.I, Dubanevich O.V., Tolyaronok G.E. BIOCHEMICAL PROPERTIES OF EPIZOOTIC STRAINS *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Mironenko V.M., Konakhovich I.K. PECULIARITIES OF EPIZOOTOLOGY OF MULLERIOSIS OF SHEEP AND GOATS IN THE REPUBLIC OF BELARUS AND IMPROVEMENT OF ITS DIAGNOSTICS METHODS

Nasonov I.V., Knysh N.V., Zinina N.V., Romanovskaya N.B. TERMS OF WITHDRAWAL OF AMOXICILLIN AFTER THE USE OF VETERINARY PREPARATION ON BROILER CHICKENS

Radchikov V.F., Sapsaleva T.L., Bogdanovich I.V. ZOO-TECHNICAL AND ECONOMIC EFFICIENCY OF GROW-ING CALVES WITH THE INCLUSION OF WHOLE CORN GRAIN IN THE DIET

Ponaskov M.A. STATE OF CELLULAR AND HUMORAL IMMUNE IN COWS, VACCINATED AGAINST INFECTIOUS PNEUMOENTERITIS

Punko A.I., Dyba E.V. ANALYSIS OF DESIGNS OF DE-VICES FOR INTERNAL CLEANING OF FEED SILOS

Lysenko A.P., Kuchvalski M.V., Pritychenko A.N., Krasnikova E.L., Anikevich N.Y. CONTAMINATION OF FETAL BOVINE SERA BY TRANSFORMED TUBERCULOSIS MYCOBACTERIA

Компьютерная верстка: Лукьянова И.А. Подписано в печать 14.12.2022 г. Формат 60х84^{1/8} Бумага офсетная. Гарнитура Таймс Уч.-изд. л. , усл. печ. л. 8,4. Тираж 100 экз. Заказ №

220063, г. Минск, ул. Брикета, 28. E-mail: bievm@tut.by; office@bievm.by; knir@tut.by; knir@bievm.by Республиканское унитарное предприятие «Информационно-вычислительный центр Министерства финансов Республики Беларусь

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

УДК 619:616.98:572-091:62.6.4:636

https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-2-3-11

Красочко П.А., доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор 1

Курдеко А.П., доктор ветеринарных наук, профессор 2

Жаворонок С.В., доктор медицинских наук, профессор³

Красочко П.П., доктор биологических наук, доцент 1

Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук, доцент⁴

Прокопенкова Т.М., младший научный сотрудник⁴

ВЗАИМОСВЯЗЬ ИНФИЦИРОВАННОСТИ СВИНЕЙ ВИРУСОМ ГЕПАТИТА Е С ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ

Резюме

В статье приведены результаты проведения сравнительного анализа взаимосвязи инфицированности свиней вирусом гепатита E с различными поражениями печени у животных на промышленных свиноводческих комплексах. Установлено широкое территориальное распространение инфицированности свиней вирусом гепатита E, которая протекает в форме скрытой инфекции без выраженных клинических признаков. При сравнительном анализе результатов серологических исследований на наличие антител к вирусу гепатита E у свиней и результатов послеубойного выявления гепатита обращает на себя внимание практически одинаковая частота патологии, 13,6 % и 14,8 % соответственно. При падеже токсическая дистрофия печени как основная причина смерти составляет 7,7—10,2 % случаев.

Ключевые слова: гепатит Е, свиньи, инфицированность, гепатодистофия, антитела, иммуноферметный анализ, патогистология.

Summary

The article provides the results of a comparative analysis of the relationship of swine hepatitis E virus infection with various liver lesions in animals on industrial pig breeding complexes. A wide territorial spread of infection of pigs with hepatitis E virus has been established, which proceeds in the form of a latent infection without pronounced clinical signs. When comparing the results of serological studies for the presence of antibodies to the hepatitis E virus in pigs and the results of post-murder detection of hepatitis, the incidence of pathology is almost the same, 13.6 % and 14.8 %, respectively. In the case, toxic liver dystrophy, as the leading cause of death, accounts for 7.7–10.2 % of cases.

Key words: hepatitis E, pigs, infection, hepatodystophy, antibodies, immunophermal analysis, pathohistology.

Поступила в редакцию 14.10.2022 г.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в патологии сельско-хозяйственных животных, особенно свиней, появилось новое инфекционное заболевание – гепатит Е.

Болезнь впервые зарегистрирована у людей в конце 70-х годов прошлого века, по клиническим признакам была характерна гепатиту, но возбудитель существенно различался в антигенном отношении. Эту болезнь вначале назвали гепатит «ни А, ни В», а позднее название было конкретизировано, и возбудителем был назван вирус гепатита Е (ВГЕ) [8].

ВГЕ принадлежит к семейству Hepeviridae, способному заражать млекопитающих, птиц и рыб. Штаммы, инфицирующие человека, относятся к роду Orthohepevirus, который разделен на четыре вида — Orthohepevirus A-D (рисунок 1). Случаи гепатита E у людей вызваны штаммами внугри вида: Orthohepevirus A, который включает восемь генотипов [8].

Два из них (ВГЕ-1 и ВГЕ-2) являются облигатными патогенами людей (рисунок 2).

Генотипы ВГЕ-3 и ВГЕ-4 эндемичны для животных, таких как свиньи, дикие каба-

 $^{^{1}}$ УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

 $^{^{2}}$ УО «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова», г. Витебск

³УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск

⁴РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

ны, олени и др. В то же время эти штаммы вызывают зоонозные инфекции у людей через потребление зараженного мяса или прямого контакта с животными, а также в результате других вероятных путей заражения. ВГЕ-5 и ВГЕ-6 зарегистрированы только у дикого кабана. ВГЕ-7 и ВГЕ-8 идентифицированы у верблюдов, однако имеются сообщения о заражении этим генотипом пациента, который регулярно употреблял мясо и молоко верблюда [7, 9]. Основным резервуаром

(a)

возбудителя и источником заражения человека ВГЕ-3 являются домашние и дикие свиньи, а главный путь заражения — пищевой. Для Республики Беларусь характерен спорадический характер заболеваемости гепатитом Е, обусловленный употреблением в пищу продуктов питания, содержащих печень (мясо) домашних или диких свиней, не прошедшие достаточной термической обработки [6].

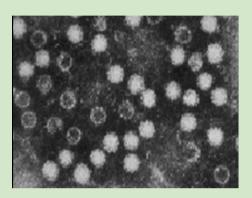


Рисунок 1. – Электронно-микроскопическое изображение вируса гепатита Е

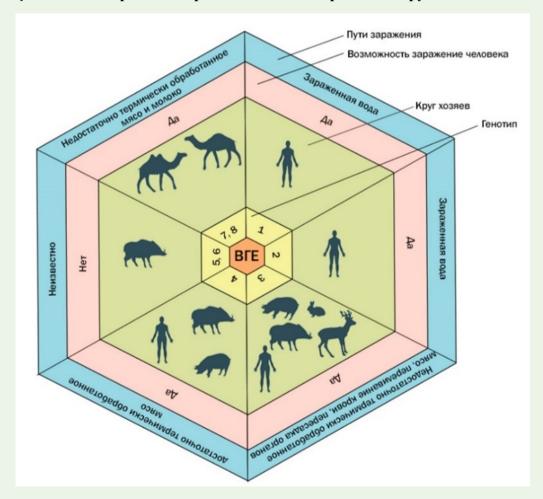


Рисунок 2. – Круг хозяев вируса гепатита Е

В исследованиях, проведенных в различных странах, вирус гепатита Е обнаружен у животных (кабанов, свиней, птиц, диких крыс и т. д.), доказана роль животных как резервуаров инфекции в возникновении острого гепатита Е у человека. На сегодняшний день до конца не определён полный спектр млекопитающих, способных выступать в качестве переносчиков ВГЕ. Тем не менее установлено, что некоторые разновидности ВГЕ, вызывающие инфицирование крыс, хорьков, мангустов и летучих мышей, не опасны для людей. Животные поддерживают циркуляцию вируса гепатита Е в природе, т. е. гепатит Е является зооантропонозной инфекцией. Зоонозный

путь передачи ВГЕ возможен главным образом через употребление в пищу сырого или недостаточно хорошо обработанного мяса инфицированных животных. В исследованиях европейских учёных отмечены случаи возникновения ВГЕ, вызванные употреблением в пищу субпродуктов и мяса диких животных, добытых в результате охоты. Изучается возможность передачи ВГЕ человеку при прямом контакте с инфицированными животными. Исследования показали, что среди ветеринарных специалистов и заводчиков свиней носители анти-ВГЕ IgG антител встречаются с достаточно высокой частотой. Это положение актуально и для Республики Беларусь [1, 2].

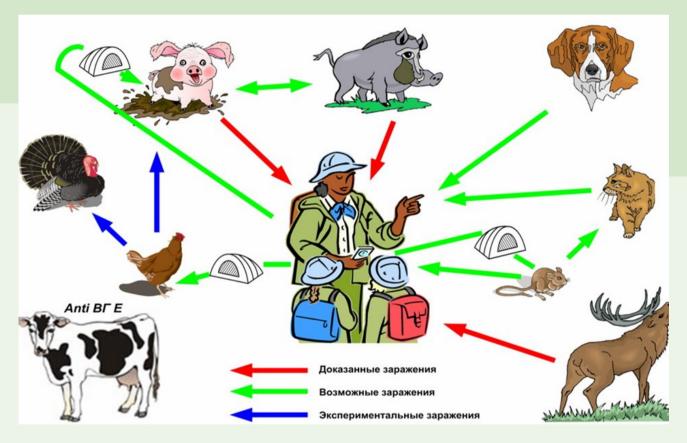


Рисунок 3. – Животные, возможные источники заражения человека гепатитом Е

В настоящее время отсутствует четкое понимание механизма реализации пищевого пути передачи ВГЕ от инфицированного животного к человеку. Наибольшее число случаев заражения связаны с употреблением в пищу печени животных. Очевидно, наибольший интерес представляет изучение свойств вируса и механизмов его передачи среди животных, с которыми воз-

можен непосредственный контакт человека, например, разведение в условиях ферм, употребление в пищу и др. В этой связи имеется предположение, что свиньи с поражением печени — один из резервуаров вируса гепатита Е, и не исключается, что от этого вида животных имеется вероятность заражения человека.

Так, при промышленном ведении

свиноводства значительную долю внутренней патологии составляют заболевания печени у свиней. Ветеринарная гепатология в настоящее время рассматривает три нозологические единицы болезней печени: гепатит, гепатоз и цирроз. Выделенная в начале текущего столетия из гепатоза токсическая дистрофия печени со временем была оформлена в нозологическую единицу. Абсцесс печени (гнойно-некротический гепатит), дистрофии (жировая, амилоидная и др.) следует считать патоморфологическими формами основных болезней. К ним можно причислить и все воспаления желчевыводящих путей, поскольку клинически у животных они не диагностируются [7].

Гепатоз как нозологическая единица и клиническое понятие из медицинской гепатологии был изъят в соответствии с мексиканской классификацией 1974 года (Мексика, г. Акапулько). В ветеринарной гепатологии этот термин также постепенно заменяется на жировую дистрофию, что не вполне оправдано, поскольку отражает не клинический, а патоморфологический аспект болезни. Скорее всего, жировая дистрофия паренхимы является универсальной ответной реакцией печени на повреждение, в первую очередь инфекционнотоксическое. Это не вполне относится к гепатитам у собак и кошек, поскольку инфекционная этиология некоторых из них доказана [3, 4].

Инфекционную природу гепатита у свиней рассматривают исследователи уже многих стран. Наиболее распространенной болезнью печени у свиней является гепатит. Его этиологические, клинические и патоморфологические формы весьма разнообразны. Из этиологических форм самым распространенным является токсический гепатит. Наши поисковые исследования позволяют утверждать, что наряду с этой нозологической формой часто регистрируется и инфекционный (вирусный) гепатит.

Для разделения гепатитов на инфекционные, токсические и медикаментозные в ветеринарной гепатологии еще нет достаточного научного обоснования. Однако в промышленном свиноводстве инфекционно-токсические гепатиты нельзя оставлять без внимания, так как это позволит увереннее ориентироваться в сложных производственных ситуациях, которые могут возни-

кать в связи со сложной эпизоотической ситуацией, широким применением вакцин, распространением так называемых «южных инфекций» в северных странах, где они ранее не регистрировались [6].

В настоящее время ведущим диагностическим критерием все еще является патоморфологический диагноз. Его определяет наличие комплекса (или его элементов) альтеративных, экссудативных и пролиферативных процессов, составляющих ответную реакцию на повреждение. Отождествление воспаления и гепатита как клинического понятия не вполне оправдано, поскольку болезнь, наряду с воспалением печеночной ткани, включает в себя и проявляется синдромами гипербилирубинемии, холестаза, печеночной недостаточности, гепатоэнцефалическим и другими [4].

Целью настоящего исследования явилось проведение сравнительного анализа взаимосвязи инфицированности свиней вирусом гепатита Е с различными поражениями печени на промышленных свиноводческих комплексах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на кафедрах эпизоотологии и инфекционных болезней животных, внутренних незаразных болезней, в отраслевой лаборатории ветеринарной биотехнологии и заразных болезней животных УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» (ВГАВМ), отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», на кафедре инфекционных болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Изучение распространения и нозологического профиля поражений печени у свиней проведено на мясокомбинатах и убойных цехах свинокомплексов. На конвейере с участием врачей-ветсанэкспертов осмотрена печень 14168 свиней 7–8-месячного возраста из трех свиноводческих комплексов Витебской области. Печень осматривали с висцеральной и диафрагмальной поверхности после убоя животных и извлечения ливера. При осмотре на основании характерных патологоанатомических признаков (таблица 1) фиксировали три основные формы патологии печени: гепатодистрофию, гепатит и цирроз [4].

Таблица 1. – Дифференциальные патологоанатомические признаки основных форм патологии печени у свиней

Показатели	Гепатодистрофия	Гепатит	Цирроз
Размер	увеличена	несколько увеличена	уменьшена
Консистенция	дряблая	дряблая или плотная	плотная
Поверхность	гладкая	гладкая	бугристая
Цвет	чередование серого, желтого и коричневого	с темно-красными полосами и пятнами	серо-коричневая
Рисунок долек	сглажен	слабо выражен	выражен

Для гистологического исследования и подтверждения диагноза проводили отбор проб печени и фиксацию их в 10 %ном формалине. Исследования, проведенные на кафедре патологической анатомии ВГАВМ, подтвердили наличие гистологической картины, характерной для вышеназванных поражений печени.

Для серологической диагностики гепатита Е у свиней в Республике Беларусь в рамках Межгосударственной программы инновационного сотрудничества государств – участников СНГ на период до 2020 года (страны исполнители - Российская Федерация, Республика Беларусь и Республика Кыргызстан) на базе УО «Белорусский государственный медицинский университет» совместно с ВГАВМ и РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» разработана иммуноферментная тест-система для полуколичественного определения иммуноглобулинов класса G к ВГЕ в сыворотке крови свиней. Тест-система разработана с использованием рекомбинантных антигенов ORF2 и ORF3, синтезированных сотрудниками НИИ вакцин и сывороток им. Мечникова, конъюгатов поликлональных антител против иммуноглобулинов класса G. Постановка ИФА проведена по общепринятой методике [2, 5].

Для исследований по изучению распространения гепатита E у свиней был ото-

бран биологический материал — 1235 проб крови из свиноводческих хозяйств Республики Беларусь.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При проведении обследования состояния убойных свиней на мясокомбинатах и убойных цехах свинокомплексов был отмечен высокий процент поражения различными формами. При этом обнаруживали гепатодистрофию, гепатит и цирроз.

На рисунках 4–8 показано состояние печени при различных патологиях.



Рисунок 4. – Печень здорового поросенка



Рисунок 5. – Жировая дистрофия печени у поросенка



Рисунок 6. – Печень поросенка с очагами некроза и пророста соединительной ткани



Рисунок 7. – Строение здоровой печени (выражено дольчатое строение)



Рисунок 8. — Строение печени с патологией (дольчатый рисунок усилен)

Установлено, что поражения печени в хозяйствах всех типов имели широкое распространение и регистрировались в среднем у 37,6 % животных. Из них на 54-тысячных комплексах отмечали более высокий процент гепатитов (17,6 %) в сравнении с менее мощными комплексами (11,9 %). Гепатодистрофию отмечали в 22,1 % случаев.

Токсическая дистрофия печени как основная причина смерти, составляя по анализируемым периодам 7,7–10,2 %, является результатом действия на организм

гепатотоксических веществ. У поросят отмечали жировую дистрофию и сосудистую реакцию печеночных вен с нарушением кровообращения в дольках печени.

При гистологическом исследовании печени с жировой дистрофией отмечено внутрицитоплазматическое накопление триглицеридов (нейтральных жиров). Вначале гепатоциты представляют собой небольшие жировые вакуоли (липосомы) вокруг ядра (микровезикулярные жировые изменения). На этой стадии клетки печени заполнены множеством жировых капель,

которые не изменяют центральное расположение ядра. На поздних стадиях размер вакуолей увеличивается, смещая ядро на периферию клетки, придавая характерный вид печатки (макровезикулярное жировое изменение). Эти пузырьки хорошо очерчены и оптически «пустые», потому что жиры растворяются во время обработки тканей.

При токсической дистрофии печени поверхность имеет пестрый вид с чередованием участков темно-красного, желтого и серого цвета; консистенция ее дряблая, паренхима легко разрывается; поверхность разреза пестро-окрашенная или тусклая, малокровная, печеночные дольки увеличены, границы их сглажены, а при гистологическом исследовании находят застойные явления, расширение и переполнение вен

и капилляров кровью, различной степени дистрофические изменения клеток паренхимы белкового и жирового типа, сопровождающиеся пикнозом или рексисом ядер, расплавлением межклеточного вещества с развитием в ряде случаев очагов коагуляционного некроза. Эти изменения клеток печени часто сопровождаются выраженной гранулоцитарной реакцией (развитие перихолангитов и появление органических скоплений и размытых полей гранулоцитов вокруг желчных ходов и по ходу портальных вен). В пролифератах, кроме гранулоцитов, обнаруживают лимфоидные и ретикулярные элементы. Сохранившиеся печеночные клетки находятся в состоянии дегенеративного ожирения и распада (рисунки 11-13).

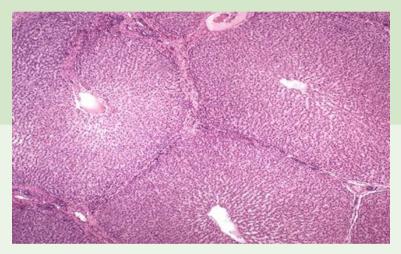


Рисунок 9. – Микроскопическое строение печени здоровой свиньи (гематоксилин и эозин, ×100)

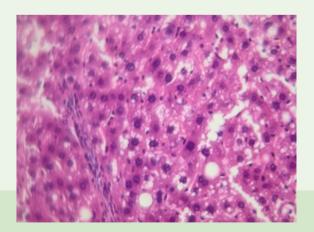


Рисунок 10. – Крупно- и мелкокапельная жировая дистрофия печени (гематоксилин и эозин, ×400)

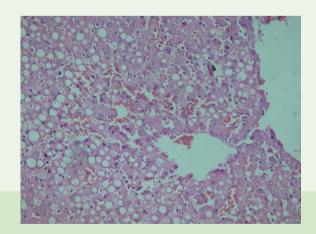


Рисунок 11. – Крупнокапельная жировая дистрофия печени (гематоксилин и эозин, ×400)

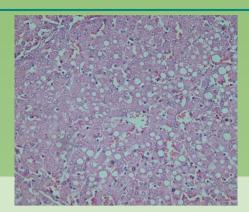


Рисунок 12. — Печень — зернистая и крупнокапельная жировая дистрофия (гематоксилин и эозин, ×400)

Установлено, что падеж поросят на участке доращивания свиноводческого комплекса обусловлен преимущественно болезнями органов пищеварительной системы, от которых погибает 67 % животных. Гепатит является основной причиной падежа около 9,1 % животных. У убойных животных, выращенных при промышленной технологии, гепатит регистрируется в среднем у 22,1 % свиней.

Следующим этапом работ служил серологический мониторинг сывороток

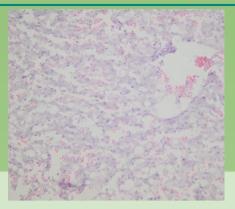


Рисунок 13. – Печень – токсическая дистрофия (гематоксилин и эозин, ×400)

крови с использованием разработанной тест-системы для постановки ИФА. По результатам обнаружения в ИФА антител к полипептидам вируса гепатита Е носительство вируса широко распространено в свиноводческих хозяйствах республики. В таблице 2 приведены результаты обследования 1235 проб сывороток крови из разных свиноводческих хозяйств Брестской, Витебской, Гомельской, Гродненской, Минской и Могилевской областей свиней разных возрастных групп.

Таблица 2. – Результаты изучения наличия антител к вирусу гепатита Е у свиней из различных областей

Область	Количество проб по группам животных / количество положительных проб / % положительных				
	поросята-сосуны	поросята- отъемыши	свиньи на откорме	свиноматки	
Брестская	-	20 / 5 / 25,0	80 / 8 / 10,0	50 / 7 / 14,0	
Витебская	30 / 3 / 10,0	15 / 3 / 20,0	160 / 17 / 10,6	140 / 18 / 12,9	
Гомельская	20 / 3 / 15,0	20 / 4 / 20,0	60 / 7 / 11,7	90 / 12 / 13,3	
Гродненская	30 / 4 / 13,3	20 / 3 / 15,0	80 / 10 / 12,5	110 / 16 / 14,5	
Минская	25 / 3 / 12,0	25 / 2 / 8,0	60 / 5 / 8,3	70 / 11 / 15,7	
Могилевская	20 / 2 / 10,0	40 / 7 / 17,5	80 / 11 / 13,8	50 / 7 / 14,0	
ИТОГО	125 / 15 / 12,0	140 / 24 / 17,1	460 / 58 / 12,6	510 / 71 / 13,9	

Из таблицы видно, что антитела к антигенам ВГЕ были обнаружены у 168 (13,6 %) животных.

В целом результаты исследований показали широкое территориальное рас-

пространение инфицированности свиней вирусом гепатита Е. Вместе с тем, скорее всего, это была скрытая инфекция без выраженных клинических признаков, причем она не приобретала тенденции к значи-

чительному охвату поголовья. При сравнительном анализе результатов серологических исследований на наличие антител к вирусу гепатита Е у свиней и результатов послеубойного выявления гепатита обращает на себя внимание практически одинаковая частота патологии, 13,6 % и 14,8 % соответственно. При падеже токсическая

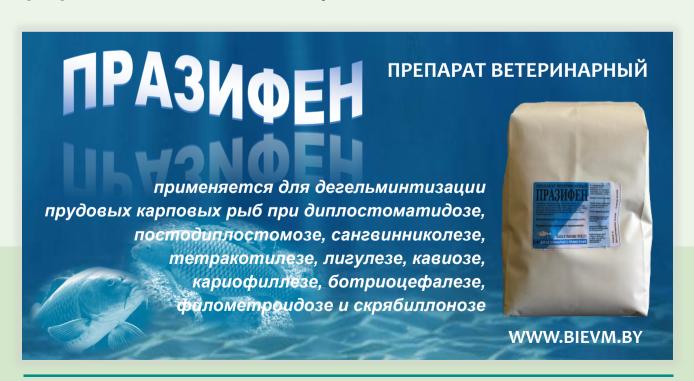
дистрофия печени как основная причина смерти составляет 7,7–10,2 % случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования свидетельствуют, что имеется взаимосвязь между патологией печени у свиней и инфицированностью животных вирусом гепатита Е.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Вирус гепатита E новый пищевой патоген в Беларуси / В. В. Давыдов [и др.] // Здравоохранение (Минск). 2020. № 6. С. 19—25.
- 2. Изучение роли животных как резервуаров вируса гепатита E человека / Π . А. Красочко [и др.] // Ветеринарна біотехнологія. 2019. N 35 (35). C. 80—89.
- 3. Котард, Ж. П. Заболевания печени у собак и кошек / Ж. П. Котард // Ветеринария. 1999. № 1. С. 4—8.
- 4. Курдеко, А. П. Экспериментальная токсическая гепатодистрофия у свиней / А. П. Курдеко // Актуальные проблемы патологии сельскохозяйственных животных : материалы междунар. науч.-практ. Конф., посвященной 70-летию со дня образования БелНИИЭВ им. С. Н. Вышелесского, г. Минск, 5-6 октября 2000 г. / Белорусский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского. Минск, 2000. С. 498–500.
- 5. Разработка тест-системы для полуколичественного выявления антител у свиней к вирусу гепатита E B Pecnyблике Eеларусь / Π .A. Kpacoчко [u dp.] // Becці Haцыянальнай акадэміі навук Eеларусі. E
- 6. Телепнев, В. А. Классификация, номенклатура и семиотика болезней печени / В. А. Телепнев // Ученые записки ВГАВМ. 1999. Т. 35., ч. 1. С. 227–230.
- 7. Ahmad, I. Molecular virology of hepatitis E virus / I. Ahmad, R. P. Holla, S. Jameel // Semin. Liver Dis. 2013. Vol. 33. P. 3–14.
- 8. Hepatitis E virus infection: Epidemiology and treatment implications / G. Y. Lee [et al.] // World J. Virol. -2015. -Vol. 4. -P. 343-355.
- 9. Renou, C. Foodborne transmission of hepatitis E virus from raw pork liver sausage, France / C. Renou, A. Roque Afonso, N. Pavio // Emerg. Infect. Dis. 2014. Vol. 20. P. 1945–1947.
- 10. Zoonotic hepatitis E virus: classication, animal reservoirs and transmission routes / V. Doceul [et al.] // Viruses. -2016. -Vol. 8. -No. 10. -270 p.



УЛК 611.451:636.2

https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-2-12-17

Федотов Д.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент Кучинский М.П., доктор ветеринарных наук, профессор 2

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

ВЛИЯНИЕ БИОЭЛЕМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МОРФОЛОГИЧЕСКУЮ ХАРАКТЕРИСТИКУ КОРКОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПОЧЕЧНИКОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме

В статье описан материал по морфологии коркового вещества надпочечников крупного рогатого скота в постнатальном онтогенезе. Установлены топографические особенности зон коры и клеток, их сравнительная морфология и закономерности роста под влиянием препаратов на основе биоэлементов.

Ключевые слова: надпочечники, морфология, бычки, препараты.

Summary

In the thesis describes a material on the morphology of the adrenal cortex of cattle in the postnatal development. Installed topographic features zone of cortex and cells, their comparative morphology and growth patterns under the influence of preparations based on bioelements.

Keywords: adrenal glands, morphology, bulls, preparations.

Поступила в редакцию 24.10.2022 г.

ВВЕДЕНИЕ

Большинство почв Республики Беларусь, как и выращенных на них растительных кормов, характеризуются низким содержанием многих эссенциальных для организма животных биоэлементов. Несбалансированность по ним рационов приводит к дефициту в организме и существенным изменениям морфогенеза ряда органов и систем, в том числе эндокринной [2, 4, 7, 8].

Известно, что селен в достаточно высоких концентрациях содержится в таких эндокринных органах, как семенники, яичники, надпочечники и гипофиз. Биологически сложный механизм обмена селена связан с включением его в специфические белки (селенопротеины), играющие важную роль в антиокислительных системах организма, функционировании поджелудочной железы, обеспечении активности ядер клеток, увеличении синтеза в них ДНК, РНК и количества рибосом [4, 9].

Синергистом селена в организме животных является витамин Е. Накапливаясь в мембранах клеток, он тормозит свободно-радикальные реакции и препятствует их

повреждению. Витамин Е участвует в механизмах переноса электронов по дыхательной цепи митохондрий [5, 9].

Наряду со щитовидной железой важную роль в адаптации организма животных к стрессовым ситуациям и обмене веществ играют также гормоны коркового вещества надпочечников [2, 11]. Однако исследований по изучению влияния отечественных препаратов на основе биоэлементов и витаминов на морфогенез эндокринных желез, в том числе надпочечников крупного рогатого скота, в литературе недостаточно.

Цель работы — определить гистологическую характеристику и динамику структурных компонентов коркового вещества надпочечников у крупного рогатого скота под влиянием препаратов на основе биоэлементов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научно-производственный опыт проводился в условиях ОАО «Липовцы» Витебского района на комплексе по выращиванию и откорму бычков. Препарат

 $^{^{2}}$ РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

«Антимиопатик 2» на основе витаминов и минералов является комбинированным и содержит витамины Е и В₆, никотинамид, селен, марганец, медь, кобальт и цинк. «БАГ-Е-селен» представляет собой комплексное лекарственное средство для парентерального применения, содержащее в своем составе витамин Е и селен. Все препараты применялись согласно ТУ и инструкциям по применению.

По принципу условных аналогов создали 3 группы бычков, контрольную (12 голов), опытную І «Антимиопатик 2» (13 голов), опытную ІІ «БАГ-Е-селен» (15 голов). Контрольная группа получала основной рацион, принятый в хозяйстве. Животным І и ІІ опытных групп дополнительно к основному рациону дважды в 14-месячном возрасте с интервалом 14 дней внутримышечно инъецировали соответственно, «Антимиопатик 2» и «БАГ-Е-селен» согласно инструкциям по применению.

Животные находились в унифицированных условиях содержания и были свободны от инфекционных и инвазионных болезней.

В ОАО «Витебский мясокомбинат» при проведении убоя в 15-месячном возрасте от бычков контрольной и опытных группы отбирали для морфологических исследований надпочечники. Предубойная живая масса животных в контрольной группе колебалась от 370 до 410 кг, в опытной группе I- от 393 до 434 кг, в опытной группе I- от 381 до 418 кг.

Надпочечники взвешивали, вырезали кусочек из центра железы и фиксировали в нейтральном 10%-ном растворе формалина. Гистологические исследования выполнялись на кафедре патологической анатомии и гистологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Морфологический материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин. Изготавливали гистологические срезы толщиной 3-5 мкм на санном МС-2 микротоме и окрашивали гематоксилин-эозином. Дополнительно изготавливали гистологические срезы толщиной 7-12 мкм на замораживающем микротоме и окрашивали суданом III для выявления липидов.

Терминология описываемых гистологических структур коркового вещества над-

почечников приводилась в соответствии с Международной гистологической номенклатурой и морфологической классификацией

Абсолютные измерения структурных компонентов надпочечников осуществляли при помощи светового микроскопа и специальных компьютерных программ. Все цифровые данные, полученные при проведении морфологических исследований, были обработаны с помощью компьютерного программного профессионального статистического пакета «IBM SPSS Statistics 21», критерий Стьюдента на достоверность различий сравниваемых показателей оценивали по трем порогам вероятности: *p<0,05, **p<0,01 и ***p<0,001.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных морфологических исследований установлено, что в среднем абсолютная масса двух надпочечников в 15-месячном возрасте у бычков составляет 22,34±3,32 г. К концу опыта у подопытных бычков данный показатель увеличился после применения препарата «Антимиопатик 2» на 13,92 %, после применения «БАГ-Е-селен» – на 12,62 %.

Достоверных изменений толщины соединительнотканной капсулы надпочечника в трех группах не наблюдалось, показатель варьировал от 252,18±4,43 до 254.93±3.23 мкм.

Все зоны коркового вещества надпочечника богаты липидами, количество которых нарастает по мере углубления и наибольшее их содержание отмечается в клетках пучковой зоны. В коре надпочечника также часто видны липидные включения в виде отдельно разбросанных кристаллов.

На гистологических препаратах надпочечников в контрольной группе бычков клетки коры малопенистые, появляется легкая зернистость и базофильный сдвиг в окраске цитоплазмы. Эти изменения наиболее заметны в пучковой зоне. При окрашивании гистологических срезов суданом III появляются и клетки, совершенно лишенные липидов, имеющие довольно светлую, слабозернистую цитоплазму, что создает впечатление легкой мозаичности коры надпочечника. Вышеуказанные морфологические признаки свидетельствуют о постоянном большом выделении гормонов коры в кровь, и их запасы в клетках не успевают пополняться. В связи с этим происходит частичная делипоидизация коркового вещества надпочечника, цитоплазма всех клеток становится несколько базофильной с легкой зернистостью, появляются очаги цитолиза клеток (особенно клубочковой зоны).

Клубочковая зона коры надпочечников бычков состоит из вертикально расположенных тяжей адренокортикоцитов раз-

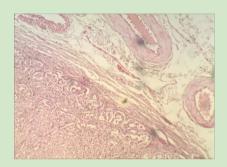


Рисунок 1. – Гистологическая композиция клубочковой и пучковой зон коры надпочечника бычка контрольной группы (окраска гематоксилин-эозином, ×100)

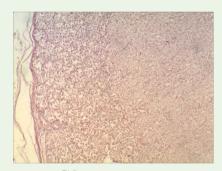


Рисунок 3. — Сформированные клубочки коркового вещества надпочечника у бычка после применения препарата «Антимиопатик 2» (окраска гематоксилин-эозином, ×100)

Толщина клубочковой зоны коры надпочечников у бычков опытной I группы после применения «Антимиопатик 2» составляет $648,85\pm8,15$ мкм. У животных контрольной группы данный показатель снизился до $602,41\pm13,44$ мкм, а в опытной II группе толщина зоны равна $613,22\pm6,91$ мкм. Диаметр адренокортикоцитов $(8,47\pm0,34$ мкм) клубочковой зоны и объем их ядер $(91,25\pm1,19$ мкм³) оказались наиболь-

нообразной формы, часто вытянутых горизонтально. В клетках клубочковой зоны коры надпочечников ядра овальные или неправильно круглые, бедные хроматином, локализованы в центре и иногда эксцентрично. Хроматин в ядре представлен пылевидной зернистостью, а мелкие ядрышки — одно, реже два, плохо заметны. На гистологических срезах в опытной I группе попадаются фигуры митоза, а цитоплазма клеток часто ажурная, что говорит о присутствии в ней большого количества липидов.

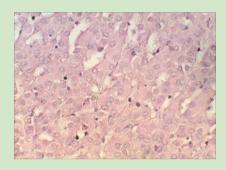


Рисунок 2. — Дискомплексация клеточных тяжей пучковой зоны коркового вещества надпочечника у бычка контрольной группы (окраска гематоксилин-эозином, ×400)

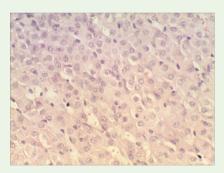


Рисунок 4. — Пролиферация адренокортикоцитов клубочковой зоны надпочечника у бычка после применения препарата «БАГ-Е-селен» (окраска гематоксилин-эозином, ×400)

шими у животных, которым применяли препарат «Антимиопатик 2». Следует отметить, что в контрольной группе объем ядер адренокортикоцитов равен 66,88±1,47 мкм³.

В опытных группах показатель увеличился после применения препарата «Антимиопатик 2» — на 36,44~% (p<0,05), а после применения «БАГ-Е-селен» — на 11,90~%.

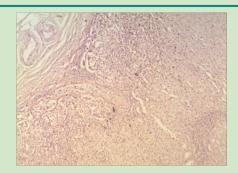


Рисунок 5. – Расширенные синусоидные капилляры пучковой зоны надпочечника у бычка при применении препарата «БАГ-Е-селен» (окраска гематоксилин-эозином, ×100)

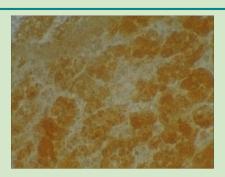


Рисунок 6. — Среднее накопление суданофильных липидов в адренокортикоцитах надпочечника у бычка при применении препарата «БАГ-Е-селен» (окраска суданом III, ×200)



Рисунок 7. — Низкая концентрация суданофильных липидов в адренокортикоцитах надпочечника у бычка контрольной группы (окраска суданом III, ×200)

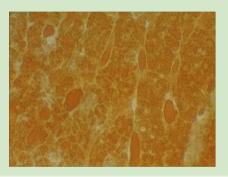


Рисунок 8. – Высокое содержание суданофильных липидов в адренокортикоцитах надпочечника у бычка при применении препарата «Антимиопатик 2» (окраска суданом III, ×200)

Во всех трех исследуемых группах бычков на гистологических срезах спонгиоциты пучковой зоны коры надпочечника чаще имели призматическую и лишь иногда — многоугольную форму. Клетки крупные, цитоплазма их зерниста и оксифильна. Ядра округлые, реже овальные, локализованы в центре клетки или ближе к ее базальной части, с 1-2 крупными эксцентричными ядрышками и мелкими глыбками хроматина.

У животных контрольной группы цитоплазма спонгиоцитов была пенистой, а ядра клеток пучковой зоны светлее.

У бычков I опытной группы отмечено накопление липидов во многих клетках, очаги цитолиза отсутствовали. Липиды были представлены в виде мелких суданофильных капель и распылены более или

менее равномерно по всей цитоплазме спонгиоцитов.

У бычков опытных групп на гистологических срезах между тяжами клеток пучковой зоны коры надпочечников обнаружено много синусоидных капилляров. Клетки полигональной формы, имеют зернистую цитоплазму, шаровидные ядра с одним или двумя четко выраженными ядрышками в центре, хроматин представлен мелкими включениями. При этом перестройка структуры хроматина ядер коры надпочечника у животных I и II группы была однотипной. Эти изменения свидетельствуют об увеличении содержания в ядре мелкодисперсного эухроматина. Морфометрические параметры надпочечников животных контрольной и опытных групп представлены в таблице.

Таблица. – Морфометрические параметры надпочечников бычков

Показатели		Группы животных				
		контрольная	опытная I	опытная II		
Абсолютная масса,	Γ	22,34±3,32	25,45±2,11	25,16±3,14		
Капсула, мкм		254,93±3,23	253,02±4,05	252,18±4,43		
	толщина, мкм	602,41±13,44	648,85±8,15	613,22±6,91		
Клубочковая зона	D клетки, мкм	8,26±0,45	8,47±0,34	8,45±0,40		
	V ядра, мкм ³	66,88±1,47	91,25±1,19*	74,84±1,51		
	толщина, мкм	790,95±4,11	888,33±4,74*	814,86±5,32		
Пучковая зона	D клетки, мкм	11,15±0,18	14,74±0,16*	12,72±0,14*		
	V ядра, мкм ³	98,22±3,69	164,38±3,89**	145,86±3,13*		
	толщина, мкм	510,04±10,19	521,59±10,66	515,85±10,22		
Сетчатая зона	D клетки, мкм	9,72±1,16	9,77±1,11	9,74±1,19		
	V ядра, мкм ³	98,64±4,65	103,49±4,31	100,29±4,53		
Толщина коры, мкм		1903,40±23,77	2058,77±20,06	1943,93±20,14		
Толщина медуллы,	MKM	765,25±12,93	801,55±11,01	784,25±12,43		

Примечание -*p<0.05, **p<0.01 по отношению к контролю

Анализ данных таблицы показывает, что у животных I и II опытных групп толщина пучковой зоны коркового вещества надпочечников после применения препаратов увеличилась, соответственно, на 12,31 % (р<0,05) и 3,02 %. При этом отмечено достоверное увеличение диаметра спонгиоцитов, соответственно, на 32,20 % (p<0,05) и 14,08 % (p<0,05). Наибольший объем ядер этих клеток пучковой зоны оказался у подопытных бычков І группы – $164,38\pm3,89 \text{ MKM}^3 \text{ (p<0,01)}, \text{ что на } 67,36 \%$ больше показателя в контроле. У бычков II группы объем ядер спонгиоцитов пучковой зоны также был выше на 48,50 % (p<0.05) и равен 145,86±3,13 мкм³.

У животных всех трех групп в клетках сетчатой зоны коры надпочечников обнаруживались округлые или неправильной овальной формы ядра с ядрышками и очень малым содержанием хроматина. Ядрышко располагается эксцентрично. Как ядра, так и цитоплазма клеток сетчатой зоны были окрашены слабее, чем спонгиоциты пучковой зоны. Конденсированный хроматин в основном локализовался возле ядерной мембраны.

Достоверных изменений толщины сетчатой зоны коркового вещества надпочечников в трех группах не наблюдалось, и показатель варьировал от $510,04\pm10,19$ до $521,59\pm10,66$ мкм. При этом диаметр адре-

нокортикоцитов данной зоны максимальным был у животных после применения препарата «Антимиопатик $2» - 9,77\pm 1,11$ мкм, а объем ядер в трех группах варьировал от $98,64\pm4,65$ до $103,49\pm4,31$ мкм³.

У бычков контрольной группы на гистологических срезах коркового вещества надпочечников обнаруживались различной величины кровоизлияния, редко выявлялась дискомплексация тяжей железистых элементов пучковой и сетчатой зон. В сочетании с кровоизлияниями это способствовало проникновению в кровеносное русло адренокортикоцитов, которые иногда имели различную степень дистрофических изменений (иногда не отличались от нормальных). При окраске гистологических срезов суданом III наибольшее содержание липидов наблюдается в цитоплазме адренокортикоцитов после применения препарата «Антимиопатик 2». Среднее содержание суданофильных липидов в коре надпочечников установлено во II опытной группе, а самая низкая их концентрация выявлена в контрольной группе бычков.

Толщина всего коркового вещества надпочечников у бычков контрольной группы оказалась $1903,40\pm23,77$ мкм. У подопытных животных I и II групп данный показатель составил, соответственно, $2058,77\pm20,06$ и $1943,93\pm20,14$ мкм. Во всех трех исследуемых группах толщина

коры превалирует над толщиной мозгового вещества надпочечников, при этом максимальный показатель последнего ($801,55\pm11,01$ мкм) был у бычков I опытной группы (после применения препарата «Антимиопатик 2»).

выводы

- 1. После применения бычкам комплексных препаратов на основе микроэлементов и витаминов в надпочечниках происходят структурно-функциональные перестройки. При этом наиболее выраженные морфогенетические процессы активации коркового вещества надпочечников за счет пролиферации адренокортикоцитов трех зон отмечены на фоне применения препарата «Антимиопатик 2», а менее выражены под влиянием лекарственного средства «БАГ-Е-селен».
- 2. Наибольшее содержание липидов наблюдается в цитоплазме адренокортикоцитов бычков после применения препарата

- «Антимиопатик 2». Среднее содержание суданофильных липидов в коре надпочечников установлено у животных II опытной группы, а самая низкая их концентрация выявлена у бычков контрольной группы.
- 3. У животных контрольной группы на гистологических срезах коркового вещества надпочечников редко выявлялась дискомплексация тяжей железистых элементов пучковой и сетчатой зон, а также очаги цитолиза клеток клубочковой зоны. В результате частичной делипидизации коркового вещества надпочечников адренокортикоциты были малопенистыми, с легкой зернистостью и базофильным сдвигом в окраске цитоплазмы.
- 4. В целом полученные данные свидетельствуют о цитоплазматическом росте и увеличении активности адренокортикоцитов надпочечников под влиянием испытуемых ветеринарных препаратов на основе биоэлементов.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Волкотруб, Л. П. Гигиенические аспекты профилактики йоддефицитных состояний / Л. П. Волкотруб // Гигиена и санитария. $2000. N_{\odot} 3. C. 28-31.$
- 2. Данилов, Р. К. Гистология. Эмбриология. Цитология: учебник для студентов медицинских вузов / Р. К. Данилов. М.: OOO «Медицинское информационное агентство», 2006. 456 с.
- 3. Исматилова, Э. Р. Пероксидазная активность нейтрофилов при йодной недостаточности / Э. Р. Исматилова // Ветеринария. 2005. N 6. C.48—50.
- 4. Кучинский, М. П. Современные проблемы эндемического зоба крупного рогатого скота / М. П. Кучинский // Ветеринарная наука производству: науч. тр. / Белорус. науч.-исслед. ин-т эксперим. ветеринарии им. С. Н. Вышелесского. Минск, 1998. Вып. 33. С. 215—221.
- 5. Кучинский, М. П. Биоэлементы фактор здоровья и продуктивности животных: монография / М. П. Кучинский. Минск: Бизнесофсет, 2007. 372 с.
- 6. Кучинский, М. П. Особенности соматического здоровья и тиреоидного статуса у молодня-ка крупного рогатого скота / М. П. Кучинский, Д. Н. Федотов, Г. М. Кучинская // Зоотехнічна наука: історія, проблеми, перспективи: Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції, 21–23 травня 2014 р., Подільскі Подільский державний аграрно-технічний університет. Кам'янець-Подільский: видавець ПП Зволейко Д.Г., 2014. С. 304–305.
- 7. Микроэлементозы сельскохозяйственных животных / А. И. Федоров [и др.]. Минск : Ураджай, 1986. 95 с.
- 8. Михалева, Л. М. Патологическая анатомия и некоторые вопросы патогенеза приобретенных и врожденных гипомикроэлементозов : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. / Л. М. Михалева. 1998.-49~c.
- 9. Мойсеенок, А. Г. Селен, селеноаминокислоты, селенопротеины: биодоступность, биосинтез, биохимические функции / А. Г. Мойсеенок, Е. В. Пестюк, Е. А. Мойсеенок // Питание и обмен веществ: сб. науч. ст. Гродно, 2002. С. 70—96.
- 10. Федотов, Д. Н. Рекомендации по морфологическому исследованию щитовидной железы у животных / Д. Н. Федотов, И. М. Луппова // Утверждены Главным управлением ветеринарии с Государственной ветеринарной и Государственной продовольственной инспекциями Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь 15.06.2010 г., № 10-1-5/66. Витебск, 2011. 16 с.
- 11. Эндемические болезни сельскохозяйственных животных / Н. А. Уразаев [и др.]. М. : Агропромиздат, 1990. C. 253-254.

УДК 619:637.075:614.94:618.19

https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-2-18-22

Каменская Т.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент **Кривенок** Л.Л., старший научный сотрудник **Лукьянчик** С.А., кандидат сельскохозяйственных наук

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

ИЗУЧЕНИЕ ОБСЕМЕНЕННОСТИ КРЫЛАТЫХ НАСЕКОМЫХ ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ МИКРООРГАНИЗМАМИ И ИХ РОЛЬ В ЭТИОЛОГИИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ МАСТИТА

Резюме

В статье представлены материалы об исследовании насекомых, отловленных в животноводческих хозяйствах молочной направленности. Выделены и описаны культуры микроорганизмов (стафилококка, стрептококка, энтеробактерий), выявленных как на поверхности, так и внутри организма мух. В условиях іп vitro проведён эксперимент по скармливанию мухам питательного корма, обсемененного культурами микроорганизмов от маститных коров, были выделены исходные культуры стафилококка. Вышеописанный опыт дает нам основание сделать предварительный вывод о возможности переноса летающими насекомыми культур микроорганизмов, вызывающих маститы у коров.

Ключевые слова: животноводческие помещения, летающие насекомые, мухи, заболевания животных, мастит, микроорганизмы, обсемененность, перенос микроорганизмов, стафилококк, стрептококк, энтеробактерии, молоко.

Summary

The article deals with the study of insects caught in dairy farms, cultures of microorganisms (staphylococcus, streptococcus, enterobacteria) were isolated and described, which were identified both on the surface and inside the body of these flies. Under the conditions of in vitro an experiment was carried out, on feeding the flies with nutritious food seeded with cultures of microorganisms from mastitis cows, the initial cultures of staphylococcus were isolated. The above experience gives us grounds to draw a preliminary conclusion about the possibility of transfer by flying insects of cultures of microorganisms that cause mastitis in cows.

Keywords: livestock buildings, flying insects, flies, animal diseases, mastitis, microorganisms, contamination, transfer of microorganisms, staphylococcus aureus, streptococcus, enterobacteria, milk.

Поступила в редакцию 24.08.2022 г.

ВВЕДЕНИЕ

В течение длительного времени остается актуальной проблема патологии молочной железы животных [3, 7, 8, 9, 13-26]. В распространении возбудителей инфекционных заболеваний некоторые летающие насекомые имеют немаловажное эпидемиологическое и эпизоотологическое значение [2]. К наиболее вредоносным двукрылым насекомым относится гнус - слепни, комары, мошки и мокрецы. Есть данные ряда зарубежных авторов о переносе вредоносными насекомыми из семейства мух множества видов патогенных бактерий, грибов, вирусов. При недостаточном обеспечении профилактических, ветеринарно-санитарных мероприятий, включающих репеллентные и инсектоцидные обработки, возможны энзоотии инфекционных болезней [2, 4, 5, 12].

По некоторым данным, в условиях массового распространения гнуса мясное и молочное животноводство теряет большую часть рентабельности из-за недополучения продукции [10].

Летающие вредоносные насекомые являются не только переносчиками особо опасных инфекций, но могут участвовать в переносе от больного к здоровому животному возбудителей, вызывающих заболевания молочной железы коров. Большинство разновидностей летающих насекомых предпочитают нежные, безволосые участки кожи, поэтому вымя коров страдает в первую очередь. Кожа вымени коров более нежная, чем на других участках тела животного, пронизана обширной сетью поверхностных капилляров, является менее защищенной и более уязвимой к воздействию вредоносных насекомых.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась на базе хозяйств Минской и Могилевской областей.

Для проведения опыта по выявлению влияния насекомых на распространение мастита в летний период времени нами были отловлены на территориях ферм по содержанию животных из окружающей среды, а также в непосредственной близости от животных двукрылые летающие насекомые.

Отловленные образцы мух были доставлены в лабораторию и исследованы на бактерионосительство (внешнее и внутреннее) [1, 11]. Насекомое (муха) помещали на 2 часа в жидкую питательную среду — сывороточный мясо-пептонный бульон (МПБ) при температуре 4 0 С и периодически осторожно встряхивали. Затем отбирали 1 см³

бульона и высевали на кровяной мясопептонный агар (МПА). Находившуюся в бульоне муху извлекали из бульона стерильным пинцетом и отмывали от бульона поочередно сначала в 70%-ном спирте, затем в 0,9%-ном физиологическом растворе. Далее насекомое измельчали в стерильной ступке с добавлением 0,1 см³ 0,9%ного физиологического раствора и полученную мацерированную взвесь наносили на кровяной МПА. Чашки с кровяным МПА инкубировали 48 часов при температуре 37 °C.

Результаты бактериологических исследований по наличию/отсутствию роста колоний микроорганизмов на кровяном МПА, выделяемых с поверхности насекомых и из мацерированной взвеси, представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Наличие микрофлоры у отловленных мух

Объект	Внешнее бактерионосительство		Внутреннее бактерионосительство		
COBCRI	рост	мазки	рост	мазки	
Насекомые с МТФ 1 (n=24)	+	грамотрицательные палочки, грамположительные кокки в виде гроздей винограда	+	грамположительные кокки в виде гроздей винограда	
Насекомые с МТФ 2 (n=29)	+	грамотрицательные палочки, грамположительные кокки, в виде коротких цепочек	+	грамположительные кокки в виде коротких цепочек	
Насекомые с МТФ 3 (n=21)	+	грамотрицательные палочки, грамположительные кокки в виде гроздей винограда	-	-	
Насекомые с МТФ 4 (n=27)	+	грамотрицательные палочки, грамположительные кокки в виде гроздей винограда	+	грамположительные кокки в виде гроздей винограда	

Примечание — «+» — наличие роста на питательной среде; «-» — отсутствие роста; $MT\Phi$ — молочно-товарная ферма

Как видно из таблицы 1, у отловленных мух наблюдалось как внешнее, так и внутреннее бактерионосительство.

В дальнейшем для изучения роли насекомых в этиологии заболеваний коров маститами на фермах нами был поставлен ряд опытов. Вначале нами были проведены диагностические исследования на маститы и от положительно реагирующих и нелеченных коров выделены микроорганизмы, способные вызывать маститы (стафилокок-

ки, стрептококки и энтеробактерии) по общепринятым методикам. Для выделения кишечной палочки делали посевы на среду Кода, кокковой микрофлоры — на солевой и кровяной МПА, споровых форм бактерий — на МПБ и МПА после прогрева молока, анаэробов — на среду Китта-Тароцци. Результаты бактериологических исследований молока от маститных и нелеченных коров отражены в таблице 2.

Таблица 2. – Бактериологические исследования молока от мастных коров

Объект	Среда Кода	Солевой МПА	Среда Карташовой	Кровяной МПА	Среда Китта- Тароцци	МПА и МПБ после прогревания смывов (выделение споровых форм)
Животные на МТФ 1 (n=7)	-	+	+	+	ı	-
Животные на МТФ 2 (n=5)	-	+	+	+	1	-
Животные на МТФ 3 (n=9)	+	+	+	+	-	-
Животные на МТФ 4 (n=7)	-	+	+	+	1	-

Примечание — *+» — наличие роста на питательной среде; *-» — отсутствие роста; $MT\Phi$ — молочно-товарная ферма

Для выделения стафилококков все пробы молока были высеяны на кровяной агар. Через 24 часа инкубации в термостате при температуре 37 °C учитывали рост колоний с гладкой блестящей поверхностью желтого окрашивания, с зоной гемолиза. Из колоний делали мазки и микроскопировали их после окраски по Граму. В мазках обнаруживали гроздевидные скопления грамположительных кокков. Выделенная культура обладала каталазной активностью и была отнесена к стафилококкам.

Кроме того, на кровяном агаре наблюдался рост мелких росинчатых колоний, вызывающих гемолиз среды. При посеве проб молока от больных маститом коров на среду Карташовой цвет среды изменялся из сине-фиолетового в зеленый. В мазках, приготовленных из этих колоний и окрашенных по Граму, обнаруживали короткие цепочки грамположительных кокков. При постановке реакции на наличие каталазной активности выделенные культуры были каталазоотрицательными, что дало нам основание считать наличие стрептококков в пробах.

Для выделения энтеробактерий пробы молока были посеяны на среду Кода. Цвет среды изменился из фиолетового в зеленый, что позволило считать их наличие в пробах.

После первичной идентификации выделенных культур был поставлен опыт на мухах. Для этого в городских помещениях были отловлены мухи и помещены в специальную герметичную камеру. Мухи в

течение 10 дней выдерживались в камере изолированно, при этом получая стерильное искусственное питание (смесь сыворотки крови и раствора глюкозы). По истечении вышеуказанного срока часть насекомых проверялись на бактерионосительство, как описывалось в опыте выше, и при отрицательном результате использовались в опыте оставшиеся насекомые.

Для постановки опыта в камеру с голодными мухами (в среднем 50 насекомых) на 2-4 часа помещали кормушку с питательным раствором, содержащим смесь сыворотки крови, раствора глюкозы с внесением микробной взвеси культуры стафилококка, выделенного от маститных коров с нагрузкой $1,0\times10^6$ КОЕ/см³. Для измерения мутности суспензии бактерий использовали денситометр DEN-1. В последующем от подопытных насекомых отбирали по 10 мух сразу и через 2 и 4 часа после кормления для выявления внешнего и внутреннего наличия исходных микроорганизмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе опыта было установлено, что у подопытных мух сразу после скармливания питательного корма, обсемененного культурой стафилококка, а также через 2 и 4 часа после скармливания с поверхности выделяли исходную культуру (таблица 3). Внутреннее бактерионосительство у мух проявлялось через 2 часа после скармливания им питательного корма, обсемененного культурой стафилококка.

Таблица 3. – Результаты по наличию бактерий стафилококка на поверхности и внутри организма мух, которым скармливали питательный корм, обсемененный искомой культурой

	Внешнее бактерионосительство		Внутреннее бактерионосительство		
Объект	рост на кровяном МПА	мазки	рост на кровяном МПА	мазки	
Мухи сразу после скарм- ливания ПР	+		-	-	
Мухи через 2 часа после скармливания ПР	+	грамположительные кокки в виде гроздей	+	грамположительные	
Мухи через 4 часа после скармливания ПР	+	винограда	+	кокки в виде гроздей винограда	

Примечание — ΠP — питательный раствор с добавлением культуры стафилококка; ** — наблюдался рост в виде средних выпуклых колоний золотистого цвета; ** — отсутствие роста

На следующем этапе в камеру, где содержались мухи, которым в течение 10 дней скармливали свободный от микроорганизмов питательный корм (сыворотка крови и глюкоза), помещали две кормушки: в одной находился питательный раствор сыворотки крови, глюкозы и микроорганизмов, выделенных из молока маститных коров, в другой - стерильный питательный раствор без микробов. Мухи в камере находились 10 часов. После этого из кормушки с питательной средой без микроорганизмов производили посевы на питательные среды для выявления искомых микроорганизмов. В результате бактериологических исследований установлено, что из первоначально стерильного питательного корма выделялись культуры стафилококка.

выводы

На основании проведенных опытов установлено:

1. На поверхности и внутри тела мух,

отобранных с территории животноводческих ферм и в непосредственной близости от нахождения животных, выделялись культуры стафилококка, стрептококка, энтеробактерии.

- 2. При постановке опыта на мухах, выдержанных на стерильном питательном корме, при скармливании им питательного корма, обсемененного культурой стафилококка, выделялись исходные культуры, как с поверхности, так и из мацерированных тел мух.
- 3. Из первоначально стерильного питательного корма для мух и после помещения его в камеру с мухами, где находился питательный корм, обсемененный стафилококком, была выделена культура стафилококка.

Вышеописанный опыт дает нам основание сделать предварительный вывод о возможности переноса летающими насекомыми культур микроорганизмов, вызывающих маститы у коров.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Антонов, Б. И. Лабораторные исследования в ветеринарии: справочник; сост., Б. И. Антонов, В. В. Борисова, П. М. Волкова, Л. П. Каменева, Л. В. Кошеленко, Г. А. Михальский, В. В. Поповцев, Л. И. Прянишникова, В. Е. Храпова; под ред. Б. И. Антонова. М.: Агропромиздат, 1986. 352 с.
- 2. Богданова, Е. Н. Научные основы интегрированной медико-биологической системы регуляции численности синантропных членистоногих : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Е. Н. Богданова. М., 2007. 49 с.
- 3. Богуш, А. А. Противомаститные мероприятия на животноводческих комплексах / А. А. Богуш, Т. Н. Каменская, В. Е. Иванов // Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария. -2005. -№ 4. -C. 66-69.
- 4. Весёлкин, Γ . А. Мухи спутники домашних животных и человека в южной части Тюменской области / Γ . А. Весёлкин, // Энтомологическое обозрение. 1966. T. 45. T. 779—793.
- 5. Горбань, Н. И. Заболевание крупного рогатого скота и лошадей от укусов мошек (мелюзинотоксикоз) / Н. И. Горбань, М. М. Воробьев // Ветеринария. $1949. N_2 6. C. 30-31.$

- 6. Спектр микрофлоры, выделяемой при мастите коров / Э. Д. Джавадов [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. -2020. -№ 4. -C. 66-68.
- 7. Каменская, Т. Н. Дезинфекционные мероприятия в условиях интенсивного животноводства / Т. Н. Каменская, Л. Л. Кривенок, С. А. Лукьянчик // Экология и животный мир. — 2021. — № 1. - C. 45-49.
- 8. Каменская, Т. Н. Антисептик на основе лекарственных трав для обработки кожи вымени сосков / Т. Н. Каменская, О. В. Хендогина // Эпизоотология Иммунология Фармакология Санитария. $2012. - N_{2} 3. - C. 31-35.$
- 9. Комаров, В. Ю. Диагностика мастита и оценка эффективности проводимой терапии / В. Ю. Комаров, Б. Л. Белкин // Инновации в АПК: проблемы и перспективы. – 2016. – № 1 (9). -C. 97-102.
- 10. Лемехов, П. А. Применение препарата репеллента Флайблок против кровососущих насекомых и влияние его на молочную продуктивность / П. А. Лемехов, С. А. Бирюков // Молочнохозяйственный вестник. $-2014. - N^2 3$ (15), III кв. -C. 22-27.
- 11. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных: справочник / Д. И Скородумов [u др.]. – M. : Изографъ, 2005. – 656 с.
- 12. Омарова, П. А. Зоофильные мухи и меры борьбы с ними / П. А. Омарова, А. М. Атаев // Ветеринария. $-2008. - N_{\odot} 4. - C. 9-11.$
- 13. Степанова, Е. А. Возбудители мастита у коров и эффективность антимикробной терапии / Е. А. Степанова, И. И. Кузьминский, А. В. Лиленко // Экология и животный мир. — 2019. — $N_{2} = C.68 - 72.$
- 14. Abera, M. Isolation and identification of Staphylococcus aureus from bovine mastitic milk and their drug resistance patterns in Adama town, Ethiopia / M. Abera // Journal of Veterinary Medicine and *Animal Health.* − 2010. − 2. − P. 29−34.
- 15. Blowey, R. Milking machines and mastitis / R. Blowey, P. Edmondson In Blowey R and Edmondson P (eds.) Mastitis control in dairy herds 2nd Edition. UK: CAB eBooks, CAB International. – 2010. – P. 60-94.
- 16. Boyso, J. O. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis / J. O. Boyso, J. J. V.Alrcon, M. C. Juarez // J. f Infect. - 2007. - V. 54. - P. 399-409.
- 17. Dego, O. K. Bovine intramammary infection associated immunogenic surface proteins of Streptococcus uberis / O. K. Dego, R. A. Almeida, A. M. Saxton // Microbial Pathogenesis. - 2018. - 115. P. 304-311.
- 18. Duarte, C. M. Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. / C. M. Duarte, P. P. Freitas, R. J. Bexiga // Veterin. Diagnost. Invest. – 2015, 27 (6). – P. 665–672.
- 19. Gomes, F. Bovine mastitis disease/pathogenicity: evidence of the potential role of microbial biofilms / F. Gomes, M. J. Saavedra, M. Henriques // Pathogens and Disease. – 2016. – 74, P. 1–19.
- 20. Hogan, J. S. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. Madison, WI / J. S. Hogan, R. N. Gonzalez, R. J. Harmon // National Mastitis Council. – 1999.
- 21. Molecular diagnostics applied to mastitis problems on dairy farms. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 28, - P. 565-576.
- 22. Kuang, Y. Characterization of bacterial population of raw milk from bovine mastitis by cultureindependent PCR-DGGE method / Y. Kuang, K. Tani, A. J. Synnott // Biochemical Engineering Journal. -*2009.* − *45.* − *P.* 76−81.
- 23. Madouasse, A. Somatic cell count dynamics in a large sample of dairy herds in England and Wales / A. Madouasse , J.N., Huxley W.J. Browne // Preventive Veterinary Medicine. – 2010. – 96. –
- 24. Petzl, W. Pathogen-specific responses in the bovine udder. Models and immunoprophylactic concepts, Research in Veterinary / W. Petzl, H. Zerbe, J. Günther. – 2018. – Science 116. – P. 55–61.
- 25. Sordillo, L. M. Mammary gland immunobiology and resistance to mastitis. Veterinary Clinics:
- Food Animal Practice. 2018. 34. P. 507–523.

 26. Viguier, C. Mastitis detection: current trends and future perspectives / C. Viguier, S. Arora, N. Gilmartin // Trends in Biotechnology. -2009. -27. -P.486-493.

УДК 619:579.843.95

https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-2-23-26

Тяпша Ю.И., кандидат ветеринарных наук, доцент Дубаневич О.В., старший научный сотрудник Андрусевич А.С., кандидат ветеринарных наук, доцент Струк М.С., старший научный сотрудник Кучвальский М.В., младший научный сотрудник

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

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ В СИСТЕМЕ КОНТРОЛЯ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ПСЕВДОМОНОЗУ В ЗВЕРОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВАХ

Резюме

Псевдомоноз пушных зверей широко распространен в мире. Заболеваемость может составлять 60 %, летальность — более 70 %. Одним из наиболее быстрых и простых видов диагностики данного заболевания является метод ПЦР. Принимая во внимание широкое разнообразие псевдомон по антигенной структуре, имеет место изучение данного разнообразия молекулярно-биологическими методами, такими как RAPD и ERIC ПЦР, так как внутривидовое различие между штаммами псевдомон следует учитывать в специфической профилактике псевдомоноза.

Ключевые слова: Pseudomonas aeruginosa, полимеразная цепная реакция, генотипирование, ERIC и RAPD ПЦР.

Summary

Pseudomonosis of fur-bearing animals is widespread in the world. Morbidity can be 60%, mortality over 70%. One of the fastest and simplest types of diagnosis of this disease is the PCR method. Given the wide diversity of Pseudomonas in antigenic structure, there is a study of this diversity by molecular biological methods, such as RAPD and ERIC PCR, since the intraspecific difference between Pseudomonas strains should be taken into account in the specific prevention of Pseudomonas.

Keywords: Pseudomonas aeruginosa, polymerase chain reaction, genotyping, ERIC and RAPD PCR.

Поступила в редакцию 25.11.2022 г.

ВВЕДЕНИЕ

Псевдомоноз (геморрагическая пневмония, синегнойная инфекция) — высококонтагиозная болезнь в основном норок, начинающаяся как алиментарная инфекция и быстро переходящая в геморрагическое воспаление легких и сепсис. К псевдомонозу наиболее восприимчивы щенки норок. У песцов и лисиц псевдомоноз обычно проявляется как местная или вторичная инфекция, характеризующаяся гнойными или гнойно-септическими процессами, абортами у самок и гибелью молодняка [3, 4].

Впервые псевдомоноз норок был описан в 1945 г. в США. Позднее болезнь регистрировали в других странах. Во второй половине XX в. во многих норководческих хозяйствах СНГ и зарубежных стран псевдомоноз вызывал массовый падеж, исчисляемый нередко десятками тысяч животных. В настоящее время, благодаря по-

всеместной вакцинации норок, заболевание встречается редко [2, 3, 4].

Возбудитель болезни – синегнойная палочка (лат. Pseudomonas aeruginosa) – грамотрицательная аэробная неспорообразующая бактерия. Относясь к группе условно-патогенных, психрофильных (холодолюбивых) бактерий, синегнойная палочка способна расти при температуре до плюс 5 °C. По этой причине микроорганизм широко распространен во внешней среде, часто обнаруживается в испражнениях животных и человека, на поверхности тела, в наружных половых органах, в фекалиях, а также в кормах, подстилке и воде даже в благополучных по псевдомонозу зверохозяйствах, причем псевдомоны, обнаруживаемые во внешней среде, относятся к тем же серотипам, которые вызывают заболевание [2].

При вскрытии поражения у норок локализуются в основном в органах дыхания. Легкие увеличены, отечны, темновишневого цвета. Легочная ткань уплотнена, имеет большое сходство по консистенции с печенью и при погружении в воду тонет. Иногда поражается одно легкое или только отдельные его участки. В трахее и бронхах находят большое количество пенистой кровянистой жидкости. Бронхиальные лимфатические узлы увеличены, кровенаполнены и отечны [2].

Диагностика. Клиническая картина болезни и патолого-анатомические изменения зачастую являются недостаточными для постановки диагноза, особенно когда к псевдомонам присоединяются эшерихии, пастереллы, сальмонеллы, протей и другие патогены.

У норок болезнь следует дифференцировать от пастереллеза, чумы плотоядных, а у лисиц и песцов — от сальмонеллеза и инфекционного гепатита [4].

Разработка методов комплексной диагностики псевдомоноза является актуальной задачей для ветеринарной практики. Так как наиболее быстрым, точным и чувствительным методом диагностики является полимеразная цепная реакция (ПЦР), нами была поставлена задача разработать тест-систему ПЦР для детекции ДНК генома *Pseudomonas*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для определения уникальных участков генома *Pseudomonas aeruginosa*, пригодных в качестве мишеней для ПЦР-диагностики был проведен анализ нуклеотидных последовательностей гена gyrB *Pseudomonas aeruginosa* и других видов псевдомон, бактерий и вирусов. Для этого использовали нуклеотидные базы данных GeneBank — Национального института здоровья США, EMBL — Европейской молекулярно-биологической лаборатории, DDBJ —

Национального института генетики и программу BLAST (www.ncbi.nlm.nih. gov/Blast). Подбор праймеров проводили с помощью программы Vector NTI.

Температуры плавления праймеров рассчитывали по формуле:

Tm = 4 (G+C) + 2 (A+T).

Для работы использовали следующее оборудование и материалы:

- а) приборы и расходные материалы: ламинар, бытовой холодильник, термостат, микротермостат «BIOSAN-CH100» (Латвия), амплификатор «С 1000 Thermal Cycler», BIO-RAD (США), автоклав, микроцентрифуга высокоскоростная (14000 об/мин) Jouan (Франция), комплект автоматических пипеток «SOCOREX» (Швейцария) 0,1-2 мкл, 0,5-10 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл. 1–10 мл и наконечники к ним (с фильтрами и без фильтров), пробирки типа Эппендорф вместимостью 0,5 и 1,5 мл, вортекс «BIOSAN» (Латвия), пробирки для ПЦР 0,2 мл для прибора «С 1000 Thermal Cycler», электрофореза система ДЛЯ «Consort», (Бельгия), Gel Doc XR и программа imageLab Software, BIO-RAD (США), весы **RADWAG** 220/X(Польша).
- б) реактивы: лабораторные образцы тест-систем для детекции генома *Pseudomonas aeruginosa*, разработанные в отделе молекулярной биологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», маркер молекулярного веса «GeneRuler 50 bp Ladder» (Fermentas, Литва), агароза (helicon, Россия), бромистый этидий (SIGMA, США), буфер для нанесения проб.

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

Амплификацию с праймерами (F1, R1)_P. aer. и (F2, R2)_P. aer проводили согласно протоколу (таблица 1).

Таблица 1. – Программа амплификации

Амплификаторы с активным регулированием (по раствору в пробирке)				
температура	время	повторов		
95 °C	3 мин	1		
95 °C	20 c			
57 °C	30 c	40		
60 °C	30 c			
10 °C	хранение	_		

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате анализа нуклеотидных последовательностей гена gyrB, кодирующего фермент ДНК-гиразу, у различных

штаммов псевдомон и других бактерий подобраны две пары праймеров для *Pseudomonas aeruginosa* (таблица 2).

Таблица 2. – Описание гена-мишени gyrB Pseudomonas aeruginosa

Название	Pseudomonas aeruginosa				
Штамм	CP069177				
Продукт	ДНК-гираза, субъ	единица B (gyrB)			
Функция	участвует в репликации ДНК, суперспирализации				
Праймер прямой	F1_P.aer.	F2_P.aer.			
Праймер обратный	R1_P.aer.	R2_P.aer.			
Последовательность, 5'-3' прямого праймера	CCTGACCATCCGTCGCCACAA	GAACAGGTCTACCACCACGG			
Последовательность, 5'-3' обратного праймера	CGCAGCAGGATGCCGACGC	TTGAACAGCTCCTCCTTGCC			
Температура плавления (Tm), °С прямого праймера	68	60			
Температура плавления (Tm), °С обратного праймера	66	60			
GC, % прямого праймера	62	60			
GC, % обратного праймера	73	55			
Ампликон, п.н.	222	224			

Подобранные праймеры специфичны, так как не совпадали с нуклеотидными последовательностями гена gyrB других бактерий, таких как *Pseudomonas fluoroscens* (CP081968.1), *Pseudomonas syringae* (CP068034.2), *Pseudomonas putida* (CP014343.1), *Esherichia coli* (CP014273.1), *Klebsiella pneumonia* (CP030313.1), *Staphy-*

lococcus aureus (AP024730.1), Salmonella typhimurium (CP034968.1).

На рисунке 1 представлена электрофореграмма результатов испытания лабораторных образцов тест-систем № 1 и № 2 для обнаружения генома *Pseudomonas aeruginosa* методом ПЦР с праймерами (F1, R1)_ P.aer. и (F2, R2)_ P.aer.

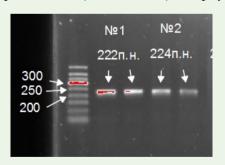


Рисунок 1. — Электрофореграмма амплификатов, полученных при выделении ДНК из бульонной культуры *Pseudomonas aeruginosa* (тест-система № 1, амплифицируемый продукт 222 п.н., тест-система № 2, амплифицируемый продукт 224 п.н.)

Наибольшее количество ПЦРпродукта образовывалось с праймерами (F1, R1) P.aer.

Учитывая сложную внутривидовую антигенную структуру псевдомон, у которых насчитывается более 20 серотипов, для специфической профилактики псевдомоноза пушных зверей используются несколько

серотипов Pseudomonas aeruginosa, так как вакцина не обеспечивает стерильный иммунитет к гетерологичным штаммам Pseudomonas aeruginosa [4]. В настоящее время в РБ для профилактики инфекционных болезней норок применяются импортные вакцины, в частности российская вакцина «Бионор», которая содержит 4 сероти-

Pseudomonas aeruginosa: 381-11-06, 1677-08, «Дн»-05 и «Вазуза». До сих пор ситуация в стране по внутривидовому генетическому различию псевдомон не изучена. Чувствительность серологических методов лиагностики. РА. РСК составляет не более 70 % [5], поэтому при изучении внутривидового различия целесообразно проводить генотипирование идентифицированных штаммов псевдомон с помощью методов ERIC и RAPD ПЦР, разделяя их по группам в соответствии с генетическими профилями [1, 6, 7]. Выявленные доминирующие серотипы Pseudomonas aeruginosa с помощью методов ERIC и RAPD ПЦР, циркулирующие на территории республики, целесообразно включать в состав вакцины. Принципиально новые данные, полученные в ходе выполнения такой работы, позволят разработать эффективные, экономически обоснованные схемы профилактики псевдомоноза на территории Республики Беларусь. Генотипирование штаммов методами ERIC и RAPD ПЦР даст возможность молекулярного мониторинга генофонда *Pseudomonas aeruginosa* на территории Республики Беларусь и на отдельных фермах.

выводы

- 1. Проведен анализ нуклеотидных последовательностей гена gyrB штаммов псевдомон и других бактерий и подобраны две пары специфичных праймеров к гену gyrB *Pseudomonas aeruginosa*.
- 2. Получены два лабораторных образца тест-систем для выявления генома *Pseudomonas aeruginosa* методом ПЦР с использованием праймеров (F1, R1)_P.aer. и (F2, R2)_P.aer. Праймеры (F1, R1)_P.aer. обеспечили более высокую чувствительность тест-системы ПЦР.
- 3. Разработанная тест-система позволит проводить быструю (в течение 4 часов) детекцию генома *Pseudomonas aeruginosa* в биологических материалах и может быть использована в качестве вспомогательного теста для внутривидового генотипирования псевдомон.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Бажанов, Д. П. Филогенетическая идентификация флуоресцирующих псевдомонад из фонда белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов / Д. П. Бажанов, К. К. Яцевич // Доклады НАН Беларуси (сентябрь-октябрь), институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск (представлено академиком Н.А. Картелем). 2010. Т. 54. № 5. С. 70—74
- 2. Инфекционные болезни животных : учебник / Б. Ф. Бессарабов [и др.]; под ред. А. А. Сидорчука. М. : Колос, 2007. 671 с.
- 3. Йнфекционные болезни животных: справочник / сост. : Ю. Ф. Борисович, Л. В. Кириллов; под ред. Д. Ф. Осидзе. М. : Агропромиздат, 1987. 288 с.
- 4. Сидорчук, А. А. Инфекционные болезни животных : учебник / А. А. Сидорчук, Н. А. Максимов, В. Л. Крупальник. М. : НИЦ ИНФРА-М, 2018. 954 с.
- 5. Akkermans, J.P.W. Complement fixation test in the diagnosis of enzootic pneumonia in pigs / J.P.W. Akkermansu, W.K.W. Hill // Netherlands J. of Veterinary Science. -1972. Vol. 5, No. 1. P. 53-59.
- 6. ERIC-PCR genotyping of Pseudomonas aeruginosa isolates from haemorrhagic pneumonia cases in mink. [Electronic resource] / Han M-ming [et al.] // Vet Rec Open. Mode of access: https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1136/vropen-2014-000043. Date of access: July. 2014.
- 7. RAPD and ERIC-PCR coupled with HRM for species identification of non-dysenteriae Shigella species; as a potential alternative method [Electronic resource] / Babak Pakbin [et. al.] // BMC Research Notes. Mode of access: bmcresnotes.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s13104-021-05759-6.pdf. Date of access: Semptember 2021.

УДК 619:579.843.95

https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-2-27-31

Андрусевич А.С., кандидат ветеринарных наук, доцент

Тяпша Ю.И., кандидат ветеринарных наук, доцент **Струк М.С.,** старший научный сотрудник

Дубаневич О.В., старший научный сотрудник

Толяронок Г.Е., кандидат ветеринарных наук, доцент

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

БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭПИЗООТИЧЕСКИХ ШТАММОВ PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Резюме

В статье приведены данные по биохимическим свойствам эпизоотических штаммов Pseudomonas aeruginosa. Принадлежность штаммов к виду Pseudomonas aeruginosa подтверждена в полимеразной цепной реакции.

Ключевые слова: Pseudomonas aeruginosa, штаммы, биохимические свойства, полимеразная цепная реакция.

Summary

The article presents data on the biochemical properties of epizootic strains of Pseudomonas aeruginosa. The belonging of the strains to the species Pseudomonas aeruginosa was confirmed by polymerase chain reaction.

Keywords: Pseudomonas aeruginosa, strains, biochemical properties, polymerase chain reaction.

Поступила в редакцию 28.11.2022 г.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время особую актуальность приобрели так называемые факторные болезни, в этиологии которых участвуют различные условно патогенные микроорганизмы. Особое значение в этом плане занимает Pseudomonas aeruginosa, обладающая высокой устойчивостью к условиям внешней среды и резистентностью к ряду применяемых в настоящее время химиотерапевтических и антибактериальных препаратов. На сегодняшний день отмечается усиление роли Pseudomonas aeruginosa в этиологии заболеваний и тяжелых инфекционных осложнений не только у пушных зверей, но и других видов животных и птицы [1, 2, 3].

Псевдомоноз — это группа бактериальных болезней, характеризующихся у молодняка септическим процессом, поражением легких, желудочно-кишечного тракта и суставов, а у взрослых особей — репродуктивных органов и молочной железы. Возбудителем псевдомоноза является грамотрицательная аэробная бактерия *Pseudomonas aeruginosa*, которая по антигенной структуре подразделяется на 20 серологических групп [4].

Определение видовой принадлежности штаммов, а также подтверждение их аутентичности (установление подлинности по свойствам, заявленным в паспорте на момент поступления) в процессе воспроизводства с учетом требований современной систематики бактерий является одним из важных направлений деятельности коллекций микроорганизмов [5].

Традиционно установление таксономической принадлежности микроорганизмов основывается на изучении их морфологических, тинкториальных, культуральных, ферментативных, антигенных и генетических свойств. Ключевым тестом при определении аутентичности является изучение биохимической активности патогена с использованием комбинированных (комплексных) сред Клиглера, Олькеницкого, Ресселя, Кларка, Гисса и коммерческих тест-систем: системы индикаторные бумажные - СИБ (Нижний Новгород), АПИ стрипы - API® (Bio-Mérieux, Франция) и др. [6, 7]. Это не всегда позволяет окончательно идентифицировать некоторые бактерии до вида, что является необходимым при включении их штаммов в коллекционный фонд. Нередки случаи, когда бактерия, идентифицированная по фенотипическим свойствам как определенный вид, оказывается при более детальном изучении иной видовой принадлежности [8].

Контроль соответствия паспортным данным особенно необходим при консервации и воспроизводстве референтных штаммов, использующихся в производственной, диагностической и образовательной деятельности, свойства которых недостаточно изучены, т.к. выделение и описание их осуществлялось в различное время, большей частью в середине XX века, когда сведения о фенотипических свойствах носили фрагментарный характер [9].

На сегодняшний день существует ряд методов для идентификации микроорганизмов. Но не все из них могут быть применимы на практике при определении серовариантной принадлежности *Pseudomonas aeruginosa* из-за своей сложности, трудоемкости и длительности.

Поэтому особое внимание в таких исследованиях стоит уделять микробиологическим анализаторам типа Vitek 2 (Bio-Mérieux, Франция), которые позволяют проводить максимально упрощенный процесс идентификации на основе анализа более 40 различных биохимических свойств бактерий. Вторым наиболее современным методом, позволяющим идентифицировать микроорганизмы и выделять их ДНК за сравнительно короткий промежуток времени, считается полимеразная цепная реакция (ПЦР). Она позволяет идентифицировать Pseudomonas aeruginosa до вида или подвида с использованием таких молекулярно-биологических тестов, ERIC и RAPD PCR.

Цель работы – изучение биохимических свойств при идентификации эпизоотических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали суточные культуры эпизоотических штаммов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», выращенные на сердечно-мозговом бульоне (фирма Sigma).

Для изучения биохимических свойств эпизоотических штаммов *Pseudomonas aeruginosa* суточную бульонную культуру пересевали на сердечно-мозговой

агар (Brain Heart Infusion Agar фирмы Bioolab, Венгрия) и культивировали в чашках Петри диаметром 90 мм (фирма Бион, г. Минск) в термостате при температуре 37 °C в течение 18–24 часов.

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

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

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 российским набором «АмплиПрайм РИБОсорб», согласно инструкции по его применению. Для обнаружения генома *Pseudomonas aeruginosa* использовали смеси для ПЦР, содержащие специфические праймеры к нуклеотидной последовательности гена gyrB генома *Pseudomonas aeruginosa*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При микроскопии мазков по Граму, сделанных из бульонных культур, *Pseudomonas aeruginosa* имели вид грамотрицательных палочек размером $0.5-1.0\times1.5-3.0$ мкм (рисунок 1).



Рисунок 1. – Морфология культуры *Pseudomonas aeruginosa* под микроскопом после окраски по Граму

С помощью микробиологического анализатора Vitek 2 compact проведена расширенная идентификация взятых в исследование эпизоотических штаммов *Pseudo-*

monas aeruginosa по биохимическим свойствам, полученные данные приведены в таблице 1.

Таблица 1. – Биохимические свойства эпизоотических штаммов Pseudomonas aeruginosa

№ п/п	Тест	Сокраще-		eudom	ческие onas ae		
11/11		пис	1	2	3	4	5
1	Ala-Phe-Pro-АРИЛАМИДАЗА	APPA	-	-	-	-	-
2	АДОНИТОЛ	ADO	-	-	-	-	-
3	L-пирролидонАРИЛАМИДАЗА	PyrA	-	-	-	-	-
4	L-АРАБИТ	IARL	-	-	-	-	-
5	D-ЦЕЛЛОБИОЗA	dCEL	-	-	-	-	-
6	БЕТА-ГАЛАКТОЗИДАЗА	BGAL	-	-	-	-	-
7	ПРОДУКЦИЯ H ₂ S	H2S	-	_	-	_	-
8	БЕТА-N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНИДАЗА	BNAG	-	_	-	_	-
9	Глютамилариламидаза pNA	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-MAHHO3A	dMNE	+	+	+	+	+
17	БЕТА-КСИЛОЗИДАЗА	BXYL			Т		Т
18			-	-		-	-
	БЕТА-аланинариламидаза pNA	BAlap	+	+	+	+	+
19	L-пролинАРИЛАМИДАЗА	ProA	+	+	+	+	+
20	ЛИПАЗА	LIP	-	+	-	+	+
21	ПАЛАТИНОЗА	PLE	-	-	-	-	-
22	ТирозинАРИЛАМИДАЗА	TyrA	-	-	+	-	-
23	УРЕАЗА	URE	-	-	-	-	-
24	D-СОРБИТ	dSOR	-	-	-	-	-
25	CAXAPO3A	SAC	-	-	-	-	-
26	D-ΤΑΓΑΤΟ3A	dTAG	-	-	-	-	-
27	D-ТРЕГАЛОЗА	dTRE	-	-	-	-	-
28	ЦИТРАТ (НАТРИЯ)	CIT	+	+	+	+	+
29	МАЛОНАТ	MNT	+	-	+	+	+
30	5-КЕТО-D-ГЛЮКОНАТ	5KG	-	-	-	-	_
31	L-ЛАКТАТ, подщелачивание	ILATk	+	+	+	+	+
32	АЛЬФА-ГЛЮКОЗИДАЗА	AGLU	-	-	-	-	-
33	СУКЦИНАТ, подщелачивание	SUCT	+	+	+	+	+
34	Бета-N-ЦЕТИЛГАЛАКТОЗАМИНИДАЗА	NAGA	-	-	-	-	-
35	АЛЬФА-ГАЛАКТОЗИДАЗА	AGAL	-	-	-	-	-
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 0/129 (вибриостат, агент)	O129R	+	_	+	+	+
44	Glu-Gly-Arg-АРИЛАМИДАЗА	GGAA					
45	Unu-Oiy-Aig-Ar ил Амидаза L-MAЛAT, ассимиляция	IMLTa	+	+	+	+	+
	ЭЛЛМАН						Г
46		ELLM	- -	-	-	-	-
47	L-ЛАКТАТ, ассимиляция	ILATa	+	+	+	+	+

При анализе биохимических свойств установлено, что все эпизоотические штаммы с вероятностью 99 % определялись как *Pseudomonas aeruginosa* без указания серовариантной принадлежности. При этом эпизоотический штамм *Pseudomonas aeruginosa* № 1 ферментировал глютамилариламидазу, гамма-глютамилтрансферазу, бета-аланинариламидазу, 1-пролинариламидазу, d-глюкозу, d-маннит, d-маннозу, малонат и кумарат. Утилизировал цитрат (натрия) и подщелачивал L-лактат с сукцинатом. Обладал способностью роста в присутствии вибриостатического агента O/129R, а также к ассимиляции L-малата и L-лактата.

Эпизоотический штамм *Pseudomonas aeruginosa* \mathbb{N}_{2} , в отличие от *Pseudomonas aeruginosa* \mathbb{N}_{2} , не ферментировал глютамилариламидазу, d-маннит и малонат, но сбраживал липазу. Также в присутствии вибриостатического агента O/129R не обладал способностью роста.

В свою очередь эпизоотический штамм *Pseudomonas aeruginosa* \mathbb{N}_{2} 3 обладал теми же биохимическими свойствами, что и *Pseudomonas aeruginosa* \mathbb{N}_{2} 1, за исключением способности к ферментации тирозинариламидазы.

Эпизоотический штамм Pseudomo-nas aeruginosa № 4 по своим биохимиче-

ским свойствам схож с предыдущими штаммами, но имел ряд своих особенностей. В отличие от *Pseudomonas aeruginosa* N_2 2, ферментировал глютамилариламидазу и малонат, обладал способностью роста в присутствии вибриостатического агента o/129R. Но, в свою очередь, как и *Pseudomonas aeruginosa* N_2 2, не ферментировал d-маннит, чем отличался от *Pseudomonas aeruginosa* N_2 1 и *Pseudomonas aeruginosa* N_2 3.

Рѕеиdотопаѕ aeruginosа № 5 обладал большинством биохимических свойств всех предыдущих штаммов, но наибольшее отличие имел от Pseudomonaѕ aeruginosа № 2.

Для подтверждения данных о принадлежности эпизоотических штаммов к виду *Pseudomonas aeruginosa*, полученных с помощью микробиологического анализатора Vitek 2 compact, нами была проведена ПЦР, результат которой показал, что все исследованные штаммы содержат геном *Pseudomonas aeruginosa* (рисунок 2).

Амплификацию ДНК проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 2 мкл выделенной ДНК. 10 mM дНТП, 0,2 мкМ каждого праймера, 2 mM хлорида магния, и 1 ЕД Тад-полимеразы (ОДО Праймтех, Минск), таблица 2.

Таблица 2. – Программа амплификации

Амплификатор с активным регу	Кол-во		
температура	температура время		
95 °C	3 мин	1	
95 °C	20 сек		
57 °C	30 c	40	
72 °C	30 c		
10 °C	хранение	_	

Электрофоретическую детекцию проводили в 2%-ном агарозном геле (рисунок 2), где M — маркер молекулярного

веса, 2-5 штаммы *Pseudomonas aeruginosa*, K+ – положительный контроль, K- отрицательный контроль.

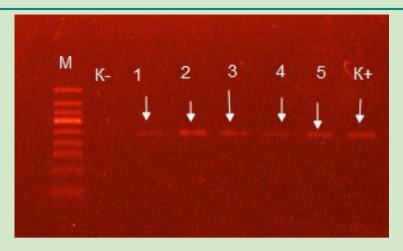


Рисунок 2. — Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК, выделенных из музейных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в агарозном геле

выводы

В результате проведенной работы установлена видовая принадлежность всех взятых в исследование эпизоотических штаммов как *Pseudomonas aeruginosa*. Благодаря анализу результатов по взаимодей-

ствию изучаемых штаммов с дифференцирующими субстратами можно предположить, что они относяться к разным серовариантам за счет аутентичности их биохимических свойств.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Африканов, С. Г. Роль синегнойной палочки в патологии птиц / С. Г. Африканов, А. К. Силин, Г. И. Пилинко // Современные средства и методы борьбы с заразными болезнями с.-х. птиц. -1988. Т. 4. № 2. С. 89–91.
- 2. Корж, Б. А. Роль синегнойной палочки в патологии новорождённых телят / Б. А. Корж, Я. Д. Злотквич, И. И. Гевкан // Ветеринария. Вып. 65. Киев, 1990. С. 37—41.
- 3. Селиванов, А. В. Псевдомоноз норок / А. В. Селиванов, Н. К. Седов // Инфекционные болезни животных: справочник; под ред. Д. Ф. Осидзе. М.: Агропромиздат, 1987. С. 255–256.
 - 4. Псевдомоноз животных / И. А. Болоцкий [и др.] М.: Колос, 2010. 223 с.
- 5. Smith, D. Culture Collections / D. Smith // Microbiology. 2012; 79:73—118. DOI: 10.1016/B978 -0-12-394318-7.00004-8.
- 6. Биргер, М. О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / М. О. Биргер. М.: Медицина, 1982. 464 с.
- 7. Лабинская, \hat{A} . \hat{C} . Общая и санитарная микробиология с тех- никой микробиологических исследований / A. C. Лабинская, J. Π . Блинкова, A. C. Ещина. M. : Медицина, 2004. 576 с.
- 8. Леванова, Γ . Ф. Фенотаксономия и геносистематика лактобацилл / Γ . Ф. Леванова, E. И. Ефимов. Н. Новгород: изд. Ю.А.Николаев, 2009. 248 с.
- \hat{J} 9. Белова, Л. \hat{J} 1. Биологические коллекции Российской Федерации / Л. Н. Белова, В. Н. Мошенцева // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. 2013. T.5. C.10—8.

УДК 619:616.995.1:636.3(476)

https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-2-32-37

Мироненко В.М., кандидат ветеринарных наук, доцент **Конахович И.К.,** магистр ветеринарных наук, ассистент

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

ОСОБЕННОСТИ ЭПИЗООТОЛОГИИ МЮЛЛЕРИОЗА ОВЕЦ И КОЗ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ И СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ ЕГО ДИАГНОСТИКИ

Резюме

Установлены данные по зараженности больных мюллериозом животных возбудителями других паразитозов респираторной и пищеварительной систем в овцеводческих и козоводческих хозяйствах Республики Беларусь. Разработан личинкомиграционный (пипеточный) метод выявления личинок Muellerius capillaris, превосходящий по эффективности существующие методы.

Ключевые слова: мюллерии, эймерии, овцы, козы, микстинвазии, диагностика.

Summary

The data on the infection of animals with muelleriosis and pathogens of other parasitoses of the respiratory and digestive systems in sheep and goat farms of the Republic of Belarus have been established. The larvamigration (pipette) method for detecting the larvae of Muellerius capillaris, which is superior in efficiency to the existing methods, has been developed.

Keyword: muellerias, eimeria, sheep, goats, mixed invasions, diagnostics.

Поступила в редакцию 31.10.2022 г.

ВВЕДЕНИЕ

Паразитарные болезни мелкого рогатого скота широко распространены в разных регионах мира. Многие из них причиняют экономический ущерб и являются причиной снижения продуктивности животных. Одним из таких гельминтозов является мюллериоз овец и коз.

При мюллериозе животные отстают в росте и развитии, шерсть истончается, уменьшается настриг, снижается молочная продуктивность [7].

Многочисленные литературные данные указывают на то, что в различных регионах возбудитель мюллериоза *Muellerius capillaris* у мелкого рогатого скота часто выявляется одновременно с возбудителями других паразитозов [3, 4, 6, 9, 10, 13, 14, 15].

Так, в Полесской зоне Украины у овец паразитозы наиболее часто регистрируются в виде ассоциаций. Самыми распространенными гельминтозами являются диктиокаулез, эзофагостомоз, буностомоз, нематодироз, мюллериоз, трихоцефалез [6].

В юго-западном регионе Польши в 2012—2014 гг. при обследовании муфлонов в пробах фекалий были обнаружены личинки легочных и кишечных стронгилят, а также ооцисты кокцидий рода *Eimeria*. Экстенсивность инвазии (ЭИ) легочных нематод (*Muellerius capillaris*) составила 69,78 %, кишечных стронгилят — 56,11 % и кокцидий рода *Eimeria* — 44,6 % [9].

В Германии у 6 вскрытых коз в легких были обнаружены *Cystocaulus ocrea*tus, *Muellerius capillaris, Neostrongylus line*aris и *Protostrongylus rufescens* [12]. В легких 59 вскрытых овец была обнаружена нематода *Muellerius capillaris* (72,9 %) [13].

В Калининградской области на крупных овцеводческих фермах регистрируется мюллериоз с диктиокаулезом и эймериозом — $23,2\pm1,1$ %, мюллериоз с остертагиозом и коопериозом — $17,6\pm0,9$ % и мюллериоз с нематодирозом — $9,6\pm0,55$ %. У коз регистрируется мюллериоз с эймериозом — $15,9\pm1,9$ %, мюллериоз с остертагиозом — $10,3\pm1,6$ %, а также мюллериоз с мониезиозом и эймериозом — $5,8\pm1,2$ % [4].

В Новой Зеландии в зимний период были исследованы легкие 4284 вскрытых коз. В 41 % случаях в легких была обнаружена нематода *Muellerius capillaris*, в 33 % – *Dictyocaulus filaria* и в 8 % – оба вида паразита [15].

Исследования, проведенные в Индии, показали, что распространенность паразитарной пневмонии у коз варьирует от 18,7 до 47,6 %. У больных коз в легких были обнаружены следующие виды гельминтов: Dictyocaulus filaria, Protostrongylus rufescens, Varestrongylus pneumonicus и иногда Muellerius spp. [14].

В Республике Беларусь в 2011–2012 годах были проведены копроскопические исследования проб фекалий овец из отдельных хозяйств Брестской, Гродненской, Могилевской, Гомельской и Витебской областей. Зараженность овец паразитическими простейшими и гельминтами составила 86,96±7,04 %. Зараженность овец нематодами семейства *Protostrongylidae* составила 8,43±3,62 % [3, 10].

В 2003-2005 гг. при анализе видового состава паразитарных систем у овец по отдельным областям республики было установлено наличие фасциол, парамфистоматид, стронгилоидов, кишечных стронгилят, капиллярий, трихоцефал, мюллерий, диктиокаул и мониезий. Мюллерии были выявлены В фермерском хозяйстве «Сеньково» Витебской области. ЭИ у взрослых овец составила 4,03 %, у молодняка 6–12 мес – 1,42 %. В Брестской области в специализированном овцеводческом хозяйстве «Дружба» (СПК «Конюхи») зараженность мюллериями составила 9,86 % у взрослых овец, а у ягнят до 6 месяцев – 5,23 % [1].

В Республике Беларусь в настоящее время отсутствуют детальные сведения о зараженности больных мюллериозом овец и коз другими паразитами, что свидетельствует об актуальности исследований, направленных на изучение особенностей эпизоотологии данного паразитоза.

Личинкомиграционные методы, используемые в настоящее время для диагностики паразитозов, как и большинство иных копроскопических методов, далеки от совершенства. Разработанные в начале XX-го века (Берман, Вайд, Ветцель) и измененные в сторону еще большей примитиви-

зации в середине XX-го века (Шильников, Щербович) методы построены на основе элементарных знаний о биологии возбудителя и примитивных для современного уровня развития науки технических решений. Попытки Котельникова и Хренова в 80-х годах шаблонно реализовать флотационные подходы в диагностике легочных нематодозов не увенчались успехом.

На сегодняшний день ни один из ларвоскопических методов не только не обеспечивает выявление всех личинок, находящихся в исследуемой пробе, но и постоянство уровня результативности, так как это зависит от множества неконтролируемых факторов (подвижность личинок, точность дозирующей системы, эффективность накопительной системы и др.), обусловленных нестандартизированностью ряда элементов, задействованных в исследовании.

В сложившихся условиях вышеуказанное свидетельствует о чрезвычайной актуальности исследований, направленных на совершенствование личинкомиграционных методов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для диагностики мюллериоза и других паразитозов респираторной и пищеварительной систем в овцеводческих и козоводческих хозяйствах отбирали пробы фекалий индивидуально из прямой кишки или с верхней части свежевыделенной порции фекалий с последующим проведением копроскопических исследований стандартизированными методами диагностики. Были обследованы животные следующих возрастных групп: до 4 мес., 4–12 мес., от 1 до 2 лет, старше 2 лет. Всего было обследовано 2500 овец и 1012 коз из различных областей республики. При постановке диагноза на мюллериоз учитывали морфологические особенности строения личинок паразитов [2, 5].

Совершенствование копроскопической диагностики мюллериоза осуществляли в три этапа. На первом этапе изучали эффективность функциональных элементов используемых в настоящее время методов (Бермана, Вайда). На втором этапе конструировали устройство, лишенное установленных недостатков. На третьем этапе изучали сравнительную эффектив-

ность предлагаемого нами и разработанных ранее методов и устройств.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Установлено, что одной из важных эпизоотических особенностей мюллериоза овец и коз является его частое протекание в сочетании с другими паразитозами. Так, среди овец, выделяющих с фекалиями личинки Muellerius capillaris, доля животных, выделяющих инвазионное начало только этого возбудителя, составила 28,91±5,85 %. При этом в 71,09±1,99 % случаев у животных, выделяющих с фекалиями личинки Muellerius capillaris, в фекалиях были выявлены также ооцисты, яйца и личинки других возбудителей паразитарных болезней. Максимальное количество выявленных возбудителей у одного животного достигло пяти при наибольшем распространении двукомпонентных паразитоценозов.

Ниже приведены выявленные ассоциации паразитов и количество животных в процентах, выделяющих их инвазионное начало, в разрезе паразитоценозов, включающих различное количество членов.

Двухчленные паразитоценозы у овец: мюллерии + стронгиляты желудочнокишечного тракта - у $53,37\pm1,77$ % животных; мюллерии + эймерии - 40,48 $\pm1,21$ %; мюллерии + протостронгилы - 0,40 \pm 0,09 %; мюллерии + диктиокаулы - 1,39 \pm 0,09 %, мюллерии + фасциолы - 4,17 \pm 0,10 %; мюллерии + стронгилоидесы - 7,54 \pm 0,30 %; мюллерии + трихоцефалы - 4,76 \pm 0,25 %; мюллерии + капиллярии - 1,79 \pm 0,07 %; мюллерии + мониезии - 5,75 \pm 0,19 %.

Трехчленные паразитоценозы у овец: мюллерии + эймерии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта — у $22,62\pm0,77$ % животных; мюллерии + эймерии + фасциолы — $1,19\pm0,10$ %; мюллерии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта + стронгилоидесы — $1,79\pm0,16$ %; мюллерии + трихоцефалы + стронгиляты желудочно-кишечного тракта — $0,40\pm0,06$ %; мюллерии + эймерии + стронгилоидесы — $0,60\pm0,09$ %; мюллерии + эймерии + трихоцефалы — $1,19\pm0,11$ %; мюллерии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта + диктиокаулы — $0,40\pm0,15$ %.

Четырехчленные паразитоценозы у овец: мюллерии + фасциолы + эймерии + стронгиляты желудочно-кишечного трак-

та — у 1,39 \pm 0,10 % животных; мюллерии + эймерии + стронгилоидесы + мониезии — 1,98 \pm 0,24 %; мюллерии + эймерии + трихоцефалы + стронгиляты желудочнокишечного тракта — 2,18 \pm 0,14 %; мюллерии + эймерии + стронгилоидесы + стронгиляты желудочно-кишечного тракта — 3,17 \pm 0,15 %; мюллерии + эймерии + капиллярии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта — 0,40 \pm 0,06 %; мюллерии + стронгилоидесы + трихоцефалы + стронгиляты желудочно-кишечного тракта — 0,20 \pm 0,08 %.

Пятичленные паразитоценозы у овец: мюллерии + эймерии + фасциолы + трихоцефалы + стронгиляты желудочно-кишечного тракта – у 1,79 \pm 0,11 % животных; мюллерии + эймерии + стронгилоидесы + трихоцефалы + стронгиляты желудочно-кишечного тракта – 1,59 \pm 0,19 %; мюллерии + эймерии + стронгилоидесы + капиллярии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта – 0,20 \pm 0,04 %; мюллерии + эймерии + стронгилоидесы + мониезии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта – 0,79 \pm 0,12 %.

Среди коз, выделяющих с фекалиями личинки Muellerius capillaris, доля животных, выделяющих инвазионное начало только этого возбудителя составила 15,42±3,13 %. В 84,58±4,51 % случаев у животных, выделяющих с фекалиями личинки Muellerius capillaris, в фекалиях были выявлены также ооцисты, яйца и личинки других возбудителей паразитарных болезней.

Двухчленные паразитоценозы у коз: мюллерии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта — у $65,27\pm2,0$ % животных; мюллерии + эймерии — $44,58\pm1,52$ %; мюллерии + протостронгилы — $0,49\pm0,28$ %; мюллерии + диктиокаулы — $1,48\pm0,27$ %; мюллерии + фасциолы — $5,91\pm0,80$ %; мюллерии + стронгилоидесы — $7,88\pm0,87$ %; мюллерии + трихоцефалы — $5,67\pm0,45$ %; мюллерии и капиллярии — $1,72\pm0,29$ %; мюллерии + мониезии — $6,65\pm0,67$ %.

Трехчленные паразитоценозы у коз: мюллерии + эймерии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта — у $25,37\pm1,94$ % животных; мюллерии + эймерии + фасциолы — $1,97\pm0,64$ %; мюллерии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта + стронгилоидесы — $2,22\pm0,44$ %; мюллерии + трихоцефалы + стронгиляты желудочно-

кишечного тракта -0.49 ± 0.29 %; мюллерии + эймерии + стронгилоидесы -0.99 ± 0.43 %; мюллерии + эймерии + трихоцефалы -1.97 ± 0.27 %; мюллерии + эймерии + протостронгилы -0.25 ± 0.11 %.

Четырехчленные паразитоценозы у коз: мюллерии + фасциолы + эймерии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта – у 1,23±0,32 % животных; мюллерии + эймерии + стронгилоидесы + мониезии – 1,72±0,46 %; мюллерии + эймерии + стронгилоидесы + стронгиляты желудочно-кишечного тракта – 2,96±0,43 %; мюллерии + эймерии + капиллярии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта – 0,25±0,13 %; мюллерии + стронгилоидесы + трихоцефалы + стронгиляты желудочно-кишечного тракта – 0,49±0,28 %.

Пятичленные паразитоценозы у коз: мюллерии + эймерии + фасциолы + трихоцефалы + стронгиляты желудочно-кишечного тракта — у 0.99 ± 0.35 % животных; мюллерии + эймерии + стронгилоидесы + трихоцефалы + стронгиляты желудочно-кишечного тракта — 1.23 ± 0.41 %; мюллерии + эймерии + стронгилоидесы + мониезии + стронгиляты желудочно-кишечного тракта — 0.49 ± 0.27 %.

Также важной эпизоотической особенностью мюллериоза является специфика трематодозного компонента паразитоценозов, включающего только возбудителя фасциолеза. Отсутствие парамфистомат можно объяснить тем, что промежуточный хозяин данного возбудителя – Planorbis planorbis – относится к мелководным видам моллюсков и встречается в мелководных водоемах, в отличие от промежуточного хозяина фасциол, являющегося амфибионтным. Planorbis planorbis обитает на глубинах от уреза воды до 0,35 м [11]. Так как пастбища для выпаса овец и коз создаются преимущественно на возвышенностях, в местах, свободных от стоячих заросших водоемов и болот, то это и препятствует распространению возбудителя парамфистоматоза. С учетом зарегистрированности этого возбудителя у мелкого рогатого скота в Беларуси [1, 8] можно предположить его наличие в количествах ниже порога выявления проведенными исследованиями.

На сегодняшний день наиболее широко используемые для диагностики мюллериоза методы обладают рядом недостатков. Основными недостатками метода Бермана являются:

- минимальный эффективный объем дозирующего элемента (зажим Мора на резиновой трубке) составляет от 1,0 мл, что превышает объем, который можно разместить и комфортно исследовать на предметном стекле:
- накопительно-концентрирующий элемент (воронка) имеет значительный объем, обуславливающий длительность и хаотичность процесса концентрации личинок. Угол наклона стенок воронки обуславливает осаждение личинок на них и, таким образом, задержку их концентрирования в резиновой трубке у зажима;
- фиксирующий элемент (марля/ ситечко) при использовании марли уменьшает площадь свободной поверхности исследуемого материала и служит барьером для продвижения личинок в накопительноконцентрирующий элемент.

Основными недостатками метода Вайда являются:

- объем жидкости, используемый для увлажнения пробы, превышает таковой для размещения на предметном стекле, что увеличивает время, необходимое для микроскопирования;
- в течение всего времени исследования большая часть пробы остается лишь слегка увлажненной, что обусловливает выход только части личинок;
- в зависимости от температуры и влажности воздуха в помещении в течение 15–60 минут происходит полное высыхание жидкости, используемой для увлажнения пробы, что требует ее восполнения.

Вышеуказанные недостатки свидетельствуют о невозможности стандартизации диагностики мюллериоза при использовании методов Бермана и Вайда.

Во устранение вышеуказанных недостатков сконструировано устройство, состоящее из полистироловой пипетки и резиновой пробки.

Функционально элементы накопления и концентрирования объединены в пипетке. Фиксирующий элемент отсутствует или представлен иглой, закрепленной в пробке (на нее нанизывается исследуемый материал). Дозирующий элемент реализуется свойством упругости пипетки — при ее сжатии внутренний объем сокращается и

происходит выделение личинкосодержашей жилкости.

Для проведения исследования в пипетку помещают 5,0 г фекалий (нанизывают на иглу), закрывают резиновой пробкой, размещают вертикально пробкой вниз и при помощи шприца (20,0 мл) через отверстие суженной части наполняют пипетку водопроводной водой с температурой плюс 30–35 °C. Помещают в штатив вертикально пробкой вверх.

Таблица. – Сравнительная эффективность методов Бермана, Вайда и разработанного личинкомиграционного (пипеточного) метода

	Количество выделенных личинок (на 1 г фекалий)				
Экспозиция	метод Бермана	метод Вайда	личинкомиграционный (пипеточный) метод		
10 минут	-	12,3±1,45	-		
20 минут	-	28,0±2,89	8,15±0,67		
30 минут	2,3±0,33	15,7±1,76	11,0±0,58		
40 минут	1,6±0,67	5,3±0,31	17,6±2,60		
50 минут	6,1±2,3	4,6±0,88	15,3±0,33		
60 минут	10,3±0,54	2,0±1,32	8,6±3,18		
1,5 часа	36,1±2,91	-	40,6±2,33		
2 часа	19,0±1,73	-	22,0±1,53		
3 часа	8,5±0,76	-	-		
4 часа	4,0±1,15	-	-		
5 часов	2,3±0,88	-	-		
6 часов	2,0±0,58	-	-		
Всего	92,2±1,27	67,9±0,36	123,25±1,75		

Экспозиция — 2 часа. Помещают предметное стекло в штатив под пипетку. Сжимают пипетку в средней части указательным и большим пальцами до выделения на предметное стекло трех капель жидкости. Полученный материал накрывают покровным стеклом и микроскопируют.

Результаты исследований показали (таблица), что предложенный личинкомиграционный (пипеточный) метод позволяет в минимальные сроки (2 часа) получить наибольшее количество максимально сконцентрированного инвазионного начала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлены эпизоотические особенности протекания мюллериоза мелкого ро-

гатого скота в виде моно- и микстинвазий в условиях овцеводческих и козоводческих хозяйств Республики Беларусь. У овец моноинвазии составляют $28,91\pm5,85$ %, поли-инвазии — $71,09\pm1,99$ %. У коз моноинвазии составляют $15,42\pm3,13$ %, полиинвазии — $84,58\pm4,51$ %

Уточнены компоненты паразитоценозов пищеварительной и респираторной систем мелкого рогатого скота. Установлены возбудители, относящиеся к классам Trematoda, Cestoda, Nematoda и Coccidia, включающие следующие таксоны: род Eimeria, род Moniezia, род Fasciola, род Protostrongylus, род Muellerius, род Dictyocaulus, род Capillaria, род Trichocephalus, род Strongyloides, подотряд Strongylata.

Изучены типы паразитоценозов (по количеству членов) пищеварительной и респираторной систем мелкого рогатого скота. Определены возбудители, формирующие устойчивое паразитоценологическое ядро (Eimeria, Strongylata, Muellerius). Установленные эпизоотические особенно-

сти мюллериоза позволяют разработать эффективную стратегию противопаразитарных мероприятий.

Разработан метод диагностики мюллериоза, осуществляемый в пипетках, который превосходит по эффективности существующие методы.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Вербицкая, Л. А. Гельминты и гельминтозы овец в различных хозяйствах / Л. А. Вербицкая, Н. И. Олехнович // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» : научн.-практ. журн. Витебск, 2008. Т. 44. Вып. 1. С. 10—12.
- 2. Капустин, В. Ф. Атлас наиболее распространенных гельминтов сельскохозяйственных животных / В. Ф. Капустин. М.: Гос. изд-во с.-х. лит., 1953. 140 с.
- 3. Мироненко, В. М. Паразитические простейшие и гельминты пищеварительной системы жвачных в Беларуси / В. М. Мироненко, В. Г. Кирищенко // Вестник Витеб. гос. ун-та. -2013. -№ 4 (76). -C.39–43.
- 4. Муромцев, А. Б. Основные гельминтозы жвачных в Калининградской области (эпизоотология, патогенез, лечебно-профилактические мероприятия): автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 03.00.19 / А. Б. Муромцев; Санкт-Петербургская гос. акад. вет. мед. СПб., 2008. 41 с.
- 5. Определитель паразитических нематод. Т.3. Стронгиляты / К. И. Скрябин [и др.]. М. : Изд-во акад. наук СССР, 1952. 890 с.
- 6. Смешанные гельминтозы овец и их распространение в северо-восточной части Украины / И. С. Дахно [и др.]. // Ассоциативные паразитарные болезни, проблемы экологии и терапии: материалы докладов науч. конф., Москва, 5–6 дек. 1995 г. / Рос. акад. наук; Рос. акад. с.-х. наук; Всерос. ин-т гельминтологии им. К. И. Скрябина. М., 1995. С. 60–62.
- 7. Справочник по ветеринарной гельминтологии ; ред. В. С. Ершов. М. : Колос, 1964. С. 266–270.
- 8. Субботин, А. М. Биолого-экологические основы профилактики паразитозов диких копытных и хищных млекопитающих Беларуси : монография / А. М. Субботин, А. И. Ятусевич. Витебск : УО ВГАВМ, 2009.-482 с.
- 9. Bartczak, R. Epizootic situation of mouflon ovis aries musimon in Lower Silesia on the basis of coproscopic examinations / R. Bartczak, A. Okulewicz // Ann Parasitol. -2014. -Vol. 60, $N \ge 4$. -P. 253-258.
- 10. Mironenko, V. M. Main helminthoses of sheep in Belarus and drugs for treatment / V. M. Mironenko, V. G. Kirischenko, I. K. Konakhovich // The 2-nd year of advanced research in scientific areas, Slovak Republic, 2–6 december 2013 / Institution of the university of Zilina. Slovak Republic, 2013. P. 299–300.
- 11. Planorbis Planorbis Моллюски беларуси (Mollusca of Belarus) [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://mollusca-g2n.weebly.com/planorbis-planorbis.html. Дата доступа: 29.10.2022.
- 12. Rehbein, S. Helminth species of goats in Germany / S. Rehbein, M. Visser, R. Winter // Berl Munch Tierarztl Wochenschr. -1998. Vol. 1111, No. 11-12. P. 427-431.
- 13. Rehbein, S. Endoparasitic infections in sheep from the Swabian Alb / S. Rehbein, M. Visser, R. Winter // Dtsch Tierarztl Wochenschr. $-1998. -Vol.\ 105,\ No.\ 11. -P.\ 419-424.$
- 14. Sharma, R. L. Parasitic bronchitis in goats and the possible use of Dictyocaulus filaria vaccine for its control / R. L. Sharma // Vet Parasitol. 1994. Vol. 51, N 3–4. P. 255–262.
- 15. Valero, G. A. slaughterhouse survey of lung lesions in goats / G. A. Valero, M. R. Alley, B. W. Manktelow // N Z Vet J. -1992. Vol. 40, N 2 2 P. 45 51.

УДК 619:615.33:636.52/.58.053.2

https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-2-38-42

Насонов И.В., доктор ветеринарных наук, профессор **Кныш Н.В.,** кандидат ветеринарных наук **Зинина Н.В.,** кандидат биологических наук **Романовская Н.Б.,** ветеринарный врач

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

СРОКИ ВЫВЕДЕНИЯ АМОКСИЦИЛЛИНА ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЦЫПЛЯТАХ-БРОЙЛЕРАХ

Резюме

В статье представлены результаты исследований по изучению фактических сроков выведения амоксициллина после применения ветеринарных препаратов «Амокол 50», «Амоксифарм плюс 62,5 %» и «Амоклав» на цыплятах-бройлерах для установления периода ожидания. Испытания показали, что содержание амоксициллина в мясе птицы через сутки после отмены применения исследуемых ветеринарных препаратов не превышает максимально допустимого уровня остаточных количеств. Результаты исследований позволили производителю данных ветеринарных препаратов внести изменения в инструкцию по применению и снизить период ожидания.

Ключевые слова: цыплята-бройлеры, антибиотики, амоксициллин, мясо птицы, максимально допустимый уровень остатков ветеринарных препаратов.

Summary

The article presents the results of studies on the study of the actual timing of the elimination of amoxicillin after the use of veterinary drugs «Amokol 50», «Amoxipharm plus 62.5 %» and «Amoklav» on broiler chickens to establish the waiting period. Tests have shown that the content of amoxicillin in poultry meat one day after the withdrawal of the study veterinary drugs does not exceed the maximum allowable level of residual amounts. The results of the research allowed the manufacturer of these veterinary drugs to make changes to the instructions for use and reduce the waiting period.

Keywords: broiler chickens, antibiotics, amoxicillin, poultry meat, maximum residue limits for veterinary drugs.

Поступила в редакцию 22.11.2022 г.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время мировое и отечественное птицеводство является наиболее динамично развивающейся отраслью АПК, обеспечивающей население высококачественным продуктами животного происхождения [3].

Современные индустриальные технологии выращивания сельскохозяйственных животных и птицы, как в нашей стране, так и за рубежом, предполагают широкое применение антибиотиков. Однако избыточное применение антибиотиков может быть источником распространения антибиотикорезистентных штаммов бактерий. Антибиотикорезистентность бактерий представляет глобальную биосоциальную затрагивающую проблему, множество сфер – от области пищевой достаточности и безопасности, проблем внешней торговли, финансирования со стороны фармацевтических и сельскохозяйственных компаний до здоровья и качества жизни людей.

В последние годы международные и государственные учреждения принимают меры по ограничению применения антибиотиков [2]. С 2015 года Всемирная организация здравоохранения, Всемирная организация по охране здоровья животных и Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН объединили усилия по борьбе с антибиотикорезистентностью.

В нашей стране применение антибиотиков регламентировано, установлен перечень разрешенных антибиотиков в животноводстве. Для лечения заболеваний птицы и мясных пород скота применяются антибиотики, которые контролируются в обязательном порядке: тетрациклин, стрептомицин, пенициллин, гризин, бацитроцин [1, 4].

На сегодняшний день в Республике Беларусь специалисты руководствуются следующей документацией, регламентирующей максимально допустимый уровень остаточных количеств ветеринарных пре-

паратов, других химических соединений в живых животных, продуктах животного происхождения: Постановлением Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 28 марта 2012 г. № 18 «Об утверждении Ветеринарно-сани- тарных правил проведения исследований на наличие запрещенных веществ и превышения максимально допустимых уровней остаточных количеств ветеринарных препаратов, других химических соединений в живых животных, продуктах животного происхождения» [5]; Решением коллегии Евразийской экономической комиссии от 13 февраля 2018 г. № 28 «О максимально допустимых уровнях остатков ветеринарных лекарственных средств (фармакологи- чески активных веществ), которые могут содержаться в непереработанной пищевой продукции животного происхождения, в том числе в сырье, и методиках их определения» [6].

При регистрации ветеринарных препаратов многие производители устанавливают период ожидания, основываясь на препаратах-аналогах.

Однако не стоит забывать о том, что период ожидания для конкретного вида животного, основанный на сроках, указанных в инструкции по применению препаратованалогов, не всегда соответствуют действительности. При этом фактические сроки выведения антибиотиков могут быть как меньше, так и больше указанных в инструкции по применению. Поэтому мы считаем, что для установления периода ожидания в инструкции по применению препарата необходимо использовать результаты продукции животного исследования происхождения на предмет установления фактического срока выведения из нее остаточных количеств антибиотиков.

Цель наших исследований — изучение фактических сроков выведения амоксициллина после применения ветеринарных препаратов «Амокол 50» и «Амоклав» производства ООО «Стовек» и «Амоксифарм плюс 62,5 %» производства ООО «Ветинтерфарм» на цыплятах-бройлерах для установления периода ожидания.

Ветеринарный препарат «Амокол 50» – комбинированный противомикробный препарат, представляющий собой порошок для перорального применения от белого до желтого цвета. В 1 г препарата содержится

500 мг амоксициллина тригидрата и 4000000 МЕ колистина сульфата в качестве действующих веществ и вспомогательные вещества — цитрат натрия, лимонная кислота, декстроза.

Ветеринарный препарат «Амоксифарм плюс 62,5 %» — комплексный противомикробный препарат, представляющий собой порошок от белого до светло желтого цвета. В 1 г препарата содержится 500 мг амоксициллина тригидрата и 125 мг клавулановой кислоты (в форме клавуланата калия) и вспомогательные вещества — натрия цитрат, лимонная кислота, маннитол (маннит).

Ветеринарный препарат «Амоклав» — комбинированный противомикробный препарат, представляющий собой порошок от белого до желтого цвета для перорального применения. В 1 г препарата содержится 500 мг амоксициллина тригидрата и 125 мг клавулановой кислоты (в форме калия клавуланта) в качестве действующих веществ и вспомогательные вещества — цитрат натрия, лимонная кислота, декстроза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение сроков выведения амоксициллина после применения ветеринарных препаратов «Амокол 50», «Амоксифарм плюс 62,5 %» и «Амоклав» на цыплятах-бройлерах проводили в отделе болезней птиц и пчел РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» совместно с ГУ «Белорусский государственный ветеринарный центр».

Объектом исследований служила птица кросса РОСС-308. Было сформировано три опытные группы по 18 цыплят 10-дневного возраста. Цыплята содержались в равных условиях, при одинаковом для всех режиме кормления, обогрева, освещения и питьевом режиме.

Цыплятам первой опытной группы в течение 5 дней выпаивали ветеринарный препарат «Амокол 50» индивидуальным способом из расчёта 0,3 г препарата на 1 литр воды (60 мг/кг массы тела). На 6-й день выпойку ветеринарного препарата прекратили. На 5-е сутки применения препарата, а также через сутки, 2, 3, 4 и 5 суток после окончания применения препарата убивали по три цыпленка-бройлера для дальнейших исследований на наличие антибиотика в мясе.

Цыплятам второй опытной группы в течение 5 дней выпаивали ветеринарный препарат «Амоксифарм плюс 62,5 %» индивидуальным способом из расчета 4 г препарата на 100 кг массы птицы. На 6-й день выпойку ветеринарного препарата прекратили. На 5-е сутки применения препарата, а также через сутки, 2, 3, 4 и 5 суток после окончания применения препарата убивали по три цыпленка-бройлера для дальнейших исследований на наличие антибиотика в мясе.

Цыплятам третьей опытной группы в течение 5 дней выпаивали ветеринарный препарат «Амоклав» индивидуальным способом из расчета 0,3 г препарата на 1 литр воды. На 6 день выпойку ветеринарного препарата прекратили. Через сутки, 2, 3, 4, 5 и 6 суток после окончания применения препарата убивали по три цыпленкабройлера для дальнейших исследований на наличие антибиотика в мясе.

Отобранные тушки цыплят были переданы в ГУ «Белорусский государствен-

ный ветеринарный центр» (ГУ «БГВЦ») для дальнейших исследований.

Определение остаточных количеств антибиотика в ГУ «БГВЦ» проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) по ГОСТ 31694-2012.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

За время проведения опыта не было отмечено отрицательного влияния ветеринарных препаратов «Амокол 50», «Амоксифарм плюс 62,5%» и «Амоклав» на клинический статус цыплят-бройлеров всех опытных групп. Согласно [8, 9] предельное содержание в мясе и мясных продуктах амоксициллина должно быть менее 0,05 мг/кг.

Результаты изучения остаточного количества амоксициллина, полученные на основании протоколов испытаний ГУ «БГВЦ», представлены в таблицах 1–3.

Таблица 1. — Остаточные количества амоксициллина в мясе птицы после применения ветеринарного препарата «Амокол 50»

No	Срок после отмены выпой-	Количество содержания амоксициллина в мясе, мг/кг		
пробы	ки «Амокол 50», сутки	в пробе	среднее	
1	0	0,2991		
2	0	0,6758	0,5349±0,1186	
3	0	0,6297		
4	1	0,00434		
5	1	0,00475	$0,00397\pm0,0006$	
6	1	0,00282		
7	2	<0,001		
8	2	<0,001	не обнаружено (<0,001)	
9	2	<0,001		
10	3	<0,001		
11	3	<0,001	не обнаружено (<0,001)	
12	3	<0,001		
13	4	<0,001		
14	4	<0,001	не обнаружено (<0,001)	
15	4	<0,001		
16	5	<0,001		
17	5	<0,001	не обнаружено (<0,001)	
18	5	<0,001		

Как видно из таблицы 1, на 5-е сутки применения ветеринарного препарата «Амокол 50» остаточное количество амоксициллина в мясе было в среднем 0,5349±

0,1186 мг/кг, что превышает допустимый уровень амоксициллина более чем в 10,7 раз. На 1-е сутки после прекращения выпойки ветеринарного препарата «Амокол

50» остаточное количество амоксициллина в мясе было в среднем 0.00397 ± 0.0006 , что не превышает допустимый уровень амоксициллина в мясе (0.05 мг/кг). По ре-

зультатам исследований на 2–5-е сутки после прекращения выпойки ветеринарного препарата «Амокол 50» амоксициллина в мясе не обнаружено.

Таблица 2. — Остаточные количества амоксициллина в мясе птицы после применения ветеринарного препарата «Амоксифарм 62,5 %»

No	Срок после отмены выпойки	Количество содержания амоксициллина в мясе, мг/кг		
пробы	«Амоксифарм плюс 62,5 %», сутки	в пробе	среднее	
1	0	0,1105±0,0199		
2	0	$0,1698\pm0,0306$	$0,1336\pm0,0241$	
3	0	0,1206±0,0217		
4	1	<0,001		
5	1	<0,001	не обнаружено (<0,001)	
6	1	<0,001		
7	2	<0,001		
8	2	<0,001	не обнаружено (<0,001)	
9	2	<0,001		
10	3	<0,001		
11	3	<0,001	не обнаружено (<0,001)	
12	3	<0,001		
13	4	<0,001		
14	4	<0,001	не обнаружено (<0,001)	
15	4	<0,001		
16	5	<0,001		
17	5	<0,001	не обнаружено (<0,001)	
18	5	<0,001		

Таблица 3. — Остаточные количества амоксициллина в мясе птицы после применения ветеринарного препарата «Амоклав»

№	Срок после отмены	Количество содержания амоксициллина в мясе, мг/кг			
пробы	выпойки «Амоклав», сутки	в пробе	среднее		
1	1	<0,001			
2	1	<0,001	не обнаружено (<0,001)		
3	1	<0,001			
4	2	<0,001			
5	2	<0,001	не обнаружено (<0,001)		
6	2	<0,001			
7	3	<0,001			
8	3	<0,001	не обнаружено (<0,001)		
9	3	<0,001			
10	4	<0,001			
11	4	<0,001	не обнаружено (<0,001)		
12	4	<0,001			
13	5	<0,001			
14	5	<0,001	не обнаружено (<0,001)		
15	5	<0,001			
16	6	<0,001			
17	6	<0,001	не обнаружено (<0,001)		
18	6	<0,001			

Как видно из таблицы 2, в отобранных образцах тушек цыплят-бройлеров на 5-е сутки применения ветеринарного препарата «Амоксифарм плюс 62,5 %» остаточное количество амоксициллина в мясе было в среднем 0,1336±0,0241 мг/кг, что превышает допустимый уровень амоксициллина в 2,7 раз. По результатам исследований на 1-е сутки после прекращения выпойки ветеринарного препарата «Амоксифарм плюс 62,5 %» амоксициллина в мясе не обнаружено.

По данным таблицы 3, в отобранных образцах тушек цыплят-бройлеров в разные сроки после применения ветеринарного препарата «Амоклав» остаточного количества амоксициллина в мясе не обнаружено (<0,001).

Наши исследования показали, что содержание амоксициллина в мясе птицы через сутки после отмены применения исследуемых ветеринарных препаратов «Амо-

кол 50», «Амоксифарм плюс 62,5 %» и «Амоклав» не превышает максимально допустимого уровня остаточных количеств. Результаты исследований позволили производителям данных ветеринарных препаратов внести изменения в инструкции по применению и снизить период ожидания до 1 суток.

выводы

- 1. Применение ветеринарных препаратов «Амокол 50», «Амоксифарм плюс 62,5 %» и «Амоклав» в соответствии с инструкцией по применению не оказывает отрицательного влияния на клинический статус цыплят-бройлеров.
- 2. Убой птицы на мясо после применения ветеринарных препаратов «Амокол 50», «Амоксифарм плюс 62,5 %» и «Амоклав» можно проводить не ранее, чем через сутки после последнего применения данных ветеринарных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Кузнецова, Н. М. Антибиотики и консерванты, используемые в мясоперерабатывающей промышленности / Н. М. Кузнецова, А. А. Валишев // COOLLOQUIUM-JOURNAL. 2017. № 10. $C.\ 12-15$.
- 2. Лаптев, Γ . Ю. Проблемы применения антибиотиков в птицеводстве // Γ . Ю. Лаптев, Д. Γ . Тюрина // Здоровье основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2020. C. 866—874.
- 3. Мысик, Т. А. Производство продукции животноводства в мире и отдельных странах / Т. А. Мысик // Зоотехния. 2011. N 2011. N
- 4. Ситдикова, Л. К. Антибиотики в пищевых продуктах / Л. К. Ситдикова, Г. Р. Царева // Юность и знания гарантия успеха-2019: сб. науч. трудов 6-й Междунар. молодежной науч. конф. 2019.-C.358-361.
- 5. Постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 28 марта 2012 г. № 18 «Об утверждении Ветеринарно-санитарных правил проведения исследований на наличие запрещенных веществ и превышения максимально допустимых уровней остаточных количеств ветеринарных препаратов, других химических соединений в живых животных, продуктах животного происхождения».
- 6. Решение коллегии Евразийской экономической комиссии от 13 февраля 2018 г. № 28 «О максимально допустимых уровнях остатков ветеринарных лекарственных средств (фармакологически активных веществ), которые могут содержаться в непереработанной пищевой продукции животного происхождения, в том числе в сырье, и методиках их определения».



УЛК 636.087.37:636.2.086.1:796.012.33

https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-2-43-47

Радчиков В.Ф., доктор сельскохозяйственных наук, профессор Сапсалёва Т.Л., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент Богданович И.В., аспирант

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

ЗООТЕХНИЧЕСКАЯ И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВЫРАЩИВАНИЯ ТЕЛЯТ С ВКЛЮЧЕНИЕМ В РАЦИОН ЦЕЛЬНОГО ЗЕРНА КУКУРУЗЫ

Резюме

Использование цельного зерна кукурузы в количестве 30 и 40% от массы комбикорма для телят 10—65-дневного возраста, способствует повышению среднесуточного прироста живой массы молодняка за период опыта на 4,6 и 7,6 %, при снижении затрат кормов на 2,4 и 4,1 %, себестоимости прироста — на 5,4 и 8,3 %.

Ключевые слова: молодняк крупного рогатого скота, цельное зерно, рационы, продуктивность, эффективность.

Summary

The use of whole grains of corn in the amount of 30 and 40% of the weight of compound feed for calves of 10–65 days of age, contributes to an increase in the average daily increase in live weight of young animals over the period of experience by 4.6 and 7.6%, while reducing feed costs by 2.4 and 4.1%, the cost of growth - by 5.4 and 8.3 percent. **Keywords:** young cattle, whole grain, diets, productivity, efficiency.

Поступила в редакцию 05.12.2022 г.

ВВЕДЕНИЕ

Технология кормления телят включает комплекс производственных процессов, направленных на получение здоровых животных, их рост и развитие во все возрастные периоды в соответствии с биологическими закономерностями [6, 9, 4, 2].

При рождении у теленка рубец не развит и не способен выполнять свою функцию. Однако в дальнейшем он играет ключевую роль в переваривании грубых кормов, что влияет на продуктивность. Поэтому крайне важно не упустить момент роста и развития рубца в первый месяц жизни. Именно в это время стимуляция («разгон») рубца позволит заложить основы для формирования «большого» рубца с хорошо развитыми сосочками [10, 15, 11, 14, 13].

Кормление телят раннего возраста должно обеспечивать рациональное сочетание полноценного питания по типу моногастричного животного при одновременном целенаправленном стимулировании развития функции преджелудков за счет растительных кормов [3, 12, 5].

Экономический потенциал Беларуси в значительной мере зависит от степени ис-

пользования местных сырьевых ресурсов. Согласно последним исследованиям в области физиологии и питания жвачных животных скармливание цельного зерна, овса, кукурузы, мюсли стимулирует развитие рубца. Крахмал при метаболизме в рубце, распадается до летучих жирных кислот (уксусной, пропионовой, масляной), которые помогают ускоренному развитию папилл — ворсинок стенки рубца. Развитие рубца приводит к большему потреблению и лучшему усвоению зернового стартового рациона, следствием чего является более интенсивный рост теленка [8, 1, 7].

Цель работы — изучить эффективность использования зерна кукурузы в цельном виде в кормлении телят и определить оптимальные нормы включения цельного зерна кукурузы в рационы телят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научно-хозяйственный опыт проведен на телятах в возрасте 10–65 дней. Сформировано пять групп клинически здоровых животных по 12 голов в каждой со средней живой массой 38,3–38,8 кг с уче-

том возраста, живой массы по принципу пар-аналогов. Различия в кормлении подопытного молодняка заключались в том, что телята контрольной группы получали рацион, принятый в хозяйстве, а их аналоги опытных групп — комбикорм КР-1 с разным вводом цельного зерна кукурузы: 30 %, 40 %, 50 %, 60 % по массе цельного зерна кукурузы соответственно.

В ходе исследований изучены следующие показатели: химический состав, питательность и поедаемость кормов, морфобиохимический состав крови, интенсивность роста животных, экономическая эффективность выращивания телят.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследованиями установлено, что введение цельного зерна кукурузы в состав комбикорма KP-1 способствовало повышению питательности на 4,2–7,6 % к контрольной группе, энергетической ценности – на 1,2–2,5 %.

В суточных рационах телят подопытных групп содержалось 2,46—2,54 корм. ед., концентрация в сухом веществе на уровне 1,80—1,82 корм. ед. Концентрация обменной энергии в сухом веществе рациона подопытных животных составила 14,99—15,07 МДж. С кормами сверстники контрольной группы потребили 13,5 г переваримого протеина против 12,8, 12,5, 12,4 и 12,2 г потребленного молодняком ІІ, ІІІ, ІV и V опытных групп в расчете на 1 МДж обменной энергии.

Потребление сырого жира на 1 кг сухого вещества (СВ) находилось на уровне 17,6 % в контрольном рационе, 17,6, 17,4, 17,8 и 18,0 г — II, III, IV и V опытных. Содержание сырой клетчатки в 1 кг СВ рациона телят контрольной группы составило 4,5 %, в опытных — 4,1—4,4 %. На содержание сахара в сухом веществе приходилось 22,8-23,6 %.

Соотношение кальция и фосфора в рационе подопытного молодняка находилось на уровне 1,1–1,3:1 при повышении данного показателя до 1,3:1 в контроле.

Включение повышенного количества цельного зерна кукурузы в состав комбикорма привело к снижению концентрации сырого протеина, что связано с меньшим содержанием его в зерне. При включении в состав комбикорма цельного зерна кукурузы в количестве 30 % содержание протеина снизилось на 14 % по отношению к контролю.

Скармливание животным комбикормов с включением 30 и 40 % по массе зерна кукурузы способствовало повышению потребления их на 6–8 %.

На основании результатов исследований установлено, что насыщенность эритроцитов крови дыхательным пигментом — гемоглобином у опытного молодняка II и III групп оказалась выше контрольных аналогов на 7,8 % и 9,7 %, что свидетельствует об интенсивности обмена питательных веществ (таблица 1).

Таблица 1. – Морфо-биохимический состав крови телят

Показатель	Группа						
Показатель	I	II	III	IV	V		
Эритроциты, 10 ¹² /л	4,34±0,77	4,68±0,66	4,76±0,13	4,28±0,23	4,31±0,29		
Гемоглобин, г/л	99,3±9,5	106,0±5,2	106,3±2,0	101,3±3,8	99,7±3,3		
Лейкоциты, $10^9/л$	9,57±0,28	9,53±0,20	9,50±0,29	9,63±0,20	9,60±0,25		
Общий белок, г/л	55,7±5,2	57,2±1,2	57,8±1,1	56,3±1,9	54,9±2,4		
Глюкоза, ммоль/л	5,2±0,2	5,3±0,1	5,4±0,3	5,2±0,4	5,2±0,4		
Мочевина, ммоль/л	3,57±0,25	$3,54\pm0,18$	3,55±0,10	3,58±0,20	3,58±0,43		
Тромбоциты, 10^9 /л	365,7±24,8	366,0±15,5	366,3±3,8	365,0±21,2	365,0±19,9		
Гематокрит, %	15,9±3,1	16,2±1,8	16,2±1,3	16,1±1,3	15,9±1,3		
Кальций, ммоль/л	2,60±0,19	2,60±0,14	2,60±0,21	2,60±0,09	2,60±0,07		
Фосфор, ммоль/л	2,18±0,13	2,20±0,10	2,21±0,11	2,18±0,13	2,18±0,33		

Использование в рационах телят комбикормов с цельным зерном кукурузы привело к незначительному снижению концентрации лейкоцитов в крови опытного молодняка в сравнении с контрольными аналогами. Значение данного показателя находилось в пределах физиологической нормы. Как отмечается в литературных источниках, это связано с повышенным уровнем защитных свойств организма.

Содержание белков в плазме крови дает весьма ценные сведения для суждения о физиологическом состоянии организма животных. В ходе исследований отмечен рост содержания общего белка в крови молодняка II–IV опытных групп на 1,1–3,8 %.

Глюкоза — основной источник энергии для организма. В крови молодняка II и III опытных групп концентрация глюкозы возросла на 1,9 и 3,8 % соответственно по отношению к контрольной группе, этот показатель находился в пределах физиологической нормы.

Минеральные вещества находятся в организме животных в различном состоянии – свободном или связанном с белками,

липидами, углеводами. Наибольшее значение для определения физиологического состояния животных имеет содержание в составе крови солей кальция, фосфора. При увеличении ввода цельного зерна кукурузы в рацион концентрация кальция в крови животных опытных групп находилась на одинаковом уровне с контрольным показателем.

Учитывая все межгрупповые различия в показателях крови, установлено, что все они находились в пределах физиологической нормы и указывают на нормальное течение обменных процессов.

Основными показателями выращивания телят является живая масса и скорость роста. По результатам взвешивания установлено, что среднесуточные приросты живой массы подопытных телят оказались различными и составили 500–567 г. Наибольшей энергией роста обладали телята, потреблявшие цельное зерно кукурузы в количестве 30 и 40 % от массы комбикорма (II и III опытные группы), таблица 2.

Таблица 2. – Живая масса и среднесуточные приросты телят

Показатель	Группа					
Показатель	I	II	III	IV	V	
Живая масса, кг: в начале опыта	38,3±1,2	38,8±1,0	38,3±1,1	38,4±1,1	38,6±1,2	
в конце опыта	67,3±1,8	69,1±1,2	69,5±1,8	66,3±2,0	66,1±1,0	
Валовой прирост, кг	29,0±1,2	30,3±1,3	31,2±1,1	27,9±1,9	27,5±1,2	
Среднесуточный прирост, г	527±22,4	551±23,1	567±19,9	507±35,0	500±21,8	
% к контролю	100,0	+4,6	+7,6	-3,8	-5,1	

Так, скармливание молодняку опытной группы комбикорма с включением 40% цельного зерна кукурузы, позволило получить более высокий среднесуточный прирост в количестве 567 г или выше по отношению к контрольному значению на 7,6 %.

При скармливании телятам комбикорма с включением цельного зерна кукурузы в количестве 30 % от массы, наблюдается повышение их живой массы, выразившееся в увеличении прироста на 4,6 % к контрольным животным. Потребление молод-

няком комбикорма с вводом цельного зерна кукурузы в количестве 50 и 60 % по массе, привело к ухудшению поедаемости опытного корма и уменьшению продуктивности телят, выразившейся в снижении их среднесуточного прироста на 3,8 и 5,1 % к контрольному значению.

Расчет экономической эффективности скармливания комбикормов молодняку крупного рогатого ската молочного периода с разным вводом цельного зерна кукурузы по массе представлен в таблице 3.

Таблица 3. – Экономическая эффективность скармливания телятам комбикормов с разным вводом цельного зерна кукурузы

Показатель	Группа				
Показатель	I	II	III	IV	V
Стоимость цельного зерна кукурузы, руб./кг	-	0,5	0,5	0,5	0,5
Стоимость комбикорма, руб./кг	0,92	0,79	0,75	0,71	0,67
Затраты кормов на 1 кг прироста, корм. ед.	4,67	4,56	4,48	4,88	4,92
Стоимость рациона за сутки, руб./гол.	3,77	3,73	3,72	3,66	3,62
Прирост живой массы за период опыта, кг	29,0	30,3	31,2	27,9	27,5
Стоимость 1 корм. ед., руб.	1,53	1,49	1,46	1,48	1,47
Стоимость кормов на 1 кг прироста, руб.	7,15	6,77	6,56	7,20	7,24
Себестоимость 1 кг прироста, руб.	11,50	10,88	10,55	11,58	11,64

На основании результатов проведенных исследований установлено, что скармливание молодняку крупного рогатого скота в возрасте 10–65 дней комбикормов с вводом 30 % и 40 % цельного зерна кукурузы по массе привело к снижению себестоимости прироста на 5,4 % и 8,3 % соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Скармливание комбикормов с вводом цельного зерна кукурузы в количестве 30 % и 40 % телятам в возрасте 10–65 дней является экономически целесообразным, способствует получению среднесуточных приростов живой массы молодняка 551 и 567 г или на 4,6 % и 7,6 % выше контрольного значения, при снижении затрат кормов на 2,4 % и 4,1 %, себестоимости прироста — на 5,4 % и 8,3 %.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Белково-витаминно-минеральные добавки с использованием узколистного люпина и карбамида в рационах молодняка крупного рогатого скота / Т. Л. Сапсалёва [и др.] // Инновационные подходы к развитию устойчивых аграрно-пищевых систем: материалы Междунар. науч.-практ. конф. Волгоград, 2022. С. 22—27.
- 2. Богданович, Д. М. Влияние разных доз сапропеля на трансформацию энергии рационов в продукцию и продуктивность молодняка крупного рогатого скота / Д. М. Богданович, Н. П. Разумовский // Совершенствование региональных породных ресурсов мясного скота и повышение их генетического потенциала в целях наращивания производства высококачественной отечественной говядины: материалы Междунар. науч. конф. Элиста, 2020. С. 64—68.
- 3. Влияние разных способов переработки зерна на обмен веществ и продуктивность молодняка крупного рогатого скота / Γ . В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. 2022. $C.\ 226-230$.
- 4. Влияние скармливания разных количеств сапропеля молодняку крупного рогатого скота на физиологическое состояние и переваримость питательных веществ корма / Г. В. Бесараб [и др.] // Научное обеспечение устойчивого развития агропромышленного комплекса: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвященной памяти академика РАН В.П. Зволинского и 30-летию создания ФГБНУ «ПАФНЦ РАН»; Прикаспийский аграрный федеральный научный центр РАН. Соленое Займише, 2021. С. 1331—1336.
- 5. Влияние скармливания экструдированного обогатителя на обмен веществ и продуктивность молодняка крупного рогатого скота / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. 2022. С. 290–294.

- 6. Возможность балансирования рационов молодняка крупного рогатого скота за счёт местных масличных и бобовых культур / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства: сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. 2022. С. 212—216.
- 7. Кормовые добавки в рационах молодняка крупного рогатого скота / А. М. Глинкова, [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. 2022. С. 258—262.
- 8. Природная кормовая добавка в кормлении молодняка крупного рогатого скота / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. — 2022. — С. 253—257.
- 9. Природный минеральный сорбент в кормлении молодняка крупного рогатого скота / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства: сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. 2022. С. 221—225.
- 10. Продуктивность молодняка крупного рогатого скота в зависимости от содержания в рационе расщепляемого протеина / Г. Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства: сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конференции. 2022. С. 262–267
- 11. Продуктивные и воспроизводительные показатели племенных бычков в зависимости от качества протеина в рационе / Γ . Н. Радчикова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. 2022. C. 299-304.
- 12. Регулирование обменной энергии в рационе за счёт рапсового масла / А. М. Глинкова [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. 2022. С. 271—276.
- 13. Разумовский, Н. П. Эффективность использования в кормлении молодняка крупного рогатого скота белковых добавок на основе зерна рапса, люпина, вики / Н. П. Разумовский, Д. М. Богданович // Совершенствование региональных породных ресурсов мясного скота и повышение их генетического потенциала в целях наращивания производства высококачественной отечественной говядины: материалы Междунар. науч. конф. Элиста, 2020. С. 79—83.
- 14. Эффективность использования гумата натрия в рационах телят / Г. Н. Радчикова [и др.] // Прогрессивные и инновационные технологии в молочном и мясном скотоводстве : Материалы Междунар. науч.-практ. конф. ; редкол.: Н. И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. Витебск, 2021. С. 282–287.
- 15. Эффективность скармливания молодняку крупного рогатого скота новой энергетической добавки / Г. В. Бесараб [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства: сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. 2022. С. 267–271.



УДК 619:619.98:578:615.371.03:636.22/28

https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-2-48-52

Понаськов М.А., магистр ветеринарных наук, ассистент

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

СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНОГО И ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА У КОРОВ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННЫХ ПНЕВМОЭНТЕРИТОВ

Резюме

В статье излагаются результаты изучения влияния вакцин против инфекционных пневмоэнтеритов на показатели иммунитета крови стельных коров. Установлено, что вакцины против инфекционных пневмоэнтеритов активизируют исследуемые показатели клеточного и гуморального иммунитета.

Ключевые слова: вакцина, вирусные пневмоэнтериты, вакцина «БольшеВак», вакцина «Комбовак», иммунитет, клеточный иммунитет, гуморальный иммунитет, вакцинация.

Summary

This article presents the results of studying the effect of vaccines against infectious pneumoenteritis on the parameters of blood immunity of pregnant cows. It has been established that vaccines against infectious pneumoenteritis activate the studied indicators of cellular and humoral immunity.

Keywords: vaccine, viral pneumoenteritis, vaccine «BolsheVak», vaccine «Kombovak», immunity, cellular immunity, humoral immunity, vaccination.

Поступила в редакцию 01.12.2022 г.

ВВЕДЕНИЕ

Животноводство является стратегической отраслью сельского хозяйства, обеспечивающая продовольственную независимость страны [1, 5].

Для дальнейшего стабильного развития животноводства необходимо выполнение следующих условий: во-первых, обеспечение сохранности и роста численности животных, во-вторых, постоянное увеличение объёмов производимой продукции из-за роста населения и его потребностей.

Сложность выполнения поставленных задач состоит в необходимости предотвращения падежа животных или вынужденного убоя при возникновении вспышек инфекционных болезней [4, 5, 8].

Особую роль среди всех заболеваний молодняка занимают инфекционные болезни желудочно-кишечного и респираторного тракта (инфекционные пневмоэнтериты) телят.

Полифакторность инфекционных пневмоэнтеритов телят (вовлечение в патологический процесс различных ассоциаций вирусных и бактериальных агентов) осло-

жняют своевременную диагностику и резко снижают эффективность профилактических и лечебных мероприятий [1, 6, 9, 12].

Согласно данным зарубежных и отечественных ученых и результатов собственных исследований, основными возбудителями инфекционных пневмоэетеритов являются вирусы семейства Herpesviridae (вирус инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота), Paramyxoviridae (вирусы парагриппа-3 и респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота), Flaviviridae (вирус диареи крупного рогатого скота), Adenoviridae (вирус аденовирусной инфекции крупного рогатого скота), Reoviridae (вирус ротавирусной инфекции крупного рогатого скота), Coronaviridae (вирус коронавирусной инфекции крупного рогатого скота) [6, 7, 10, 11].

Учитывая вышесказанное, сотрудниками УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» и ОАО «БелВитунифарм» была сконструирована поливалентная инактивированная культуральная вирус-вакцина против инфекционного рино-

трахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота-, коронавирусной инфекций крупного рогатого скота «БольшеВак» [9, 10].

Целью данной работы являлось сравнительное изучение влияние вакцин против инфекционных пневмоэнтеритов на динамику некоторых показателей клеточного и гуморального иммунитета.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Влияние вакцин против инфекционных пневмоэнтеритов на некоторые показатели клуточного и гуморального иммунитета стельных коров проводили в условиях СРДУП «Улишицы Агро» Витебской области и научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» (НИИ ПВМ и Б УО ВГАВМ).

Для решения поставленной задачи в в условиях молочно-товарной СРДУП «Улишицы Агро» по принципу пар-аналогов было сформировано 3 группы стельных коров за 1,5-2 мес. до отела, по 10 животных в каждой. Животным первой опытной группы вводили с соблюдением правил асептики и антисептики поливалентную инактивированную культуральную вирус-вакцину против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота-, коронавирусной инфекций крупного рогатого скота «БольшеВак» внутримышечно в область крупа в объеме 3,0 см³, второй опытной группы – вакцину инактивированную комбинированную против инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи, респираторно-синцитиальной, рота- и коронавирусной болезней крупного рогатого скота «Комбовак» в объеме $3,0 \text{ см}^3$ (рисунок 1).

	1 сутки	14 сутки	21 сутки	45 сутки	60 сутки
Первая опытная группа (Вакцина		·	Single .	·	·
«БольшеВак»)					
	Взятие проб крови	Взятие проб крови	Взятие проб крови	Взятие проб крови	Взятие проб крови
Вторая опытная группа (Вакцина «Комбовак»)					
	Взятие проб крови	Взятие проб крови	Взятие проб крови	Взятие проб крови	Взятие проб крови
Контрольная группа					
	Взятие проб	Взятие	Взятие проб	Взятие	Взятие
	крови	проб крови	крови	проб крови	проб крови

Рисунок 1. — Схема опыта изучения влияния вакцин против инфекционных пневмоэнтеритов на состояние иммунитета вакцинированных коров

Животных опытных групп иммунизировали согласно инструкции двукратно с интервалом 21 день. Коровам контрольной группы вводили по аналогичной схеме изотонический раствор натрия хлорида.

Отбор проб крови у животных всех групп проводили до иммунизации, на 14, 21, 45 и 60 сутки опыта. Наблюдение за клиническом состоянием животных проводили в течении 70 дней.

Клеточный иммунитет (содержание Т- и В-лимфоцитов) определяли по методике Д.К. Новикова и В.И. Новиковой в модификации А.Ф. Могиленко (1990). Определения титров специфических антител проводили в РНГА. Иммуноглобулины

А, М, G определяли методом радиальной иммунодиффузии по G. Mancini [2, 3, 8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате прооведенных исследований установлено, что иммунизация стельных коров исследуемыми вакцинами против инфекционных пневмоэнтеритов активизирует синтез Т- и В-лимфоцитов, что указывает на формирование напряженного поствакцинального иммунитета. До иммунизации концентрация Т- и В-лимфоцитов у коров всех групп находились примерно на одинаковым уровне (рисунок 2).





Рисунок 2. – Динамика Т- и В-лимфоцитов в крови коров, иммунизированных вакцинами против инфекционных пневмоэнтеритов

Начиная с 14 суток исследований, отмечается существенное увеличение содержания Т- и В-лимфоцитов у коров опытных групп в сравнении с контролем. На 60 сутки опыта концентрация Т-лимфоцитов у коров, иммунизированных вакциной «БольшеВак», составляла 28,7±0,933, «Комбовак» — 28,48±0,853, что выше на 16,57 % и 15,68 % по сравнению с контролем.

Уровень В-лимфоцитов у коров, иммунизированных вакциной «БольшеВак», составлял $21,96\pm0,827$, «Комбовак» — $21,34\pm0,527$, что выше на 24,07 % и 15,68 % по сравнению с контролем.

Результаты изучения уровня специфических антител в сыворотке крови иммунизированных коров представлены на рисунке 3.

Согласно данным рисунка 3 иммунизация стельных коров вирус-вакциной поливалентной инактивированной культуральной против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, парагриппа-3, респираторно-синцитиальной, рота-, коронавирусной инфекций крупного рогатого скота «БольшеВак» активизирует синтез специфических антител. Кроме этого, по интенсивности выработки противовирусных антител разработанный биопрепарат соответствует импортной вакцине-аналогу «Комбовак».

Динамику иммуноглобулинов у коров всех групп прослеживали на протяжении 60 суток (рисунок 4).

В начале исследований уровень содержания иммуноглобулина A в сыворотке крови стельных коров контрольной и опытных групп находился на уровне от 0.50 ± 0.038 до 0.52 ± 0.031 мг/мл, иммуноглобулина M – от 1.55 ± 0.028 до $1.59\pm$

0,025 мг/мл, иммуноглобулина G – от $81\pm0,249$ до $12,9\pm0,218$ мг/мл.

На протяжении всего срока исследования содержание иммуноглобулинов А, М и G в сыворотке крови коров всех групп увеличилось. Но концентрация иммуноглобулинов у животных опытных групп была значительно выше аналогичных показателей контроля.

Концентрация иммуноглобулинов М в сыворотке крови коров, иммунизированных вакциной против инфекционных пневмоэнтеритов «БольшеВак», составляла $1,90\pm0,025$ мг/мл, «Комбовак» — $1,84\pm0,017$ мг/мл, что на 11,8 % и 8,2 % соответственно выше по сравнению с контролем.

Концентрация иммуноглобулинов G в сыворотке крови коров, иммунизированных вакциной против инфекционных пневмоэнтеритов «БольшеВак», составляла 16,92±0,444 мг/мл, «Комбовак» — 16,49±0,264 мг/мл, что на 16,5 % и 13,6 % соответственно выше по сравнению с контролем.

В конце исследования регистрировали незначительное увеличение концентрации иммуноглобулинов А в сыворотке крови коров. Так, содержание данного иммуноглобулина у коров, иммунизированных вакциной против инфекционных пневмоэнтеритов «БольшеВак», составляло $0.56\pm0.075~\rm Mr/m$ л, «Комбовак» — $0.55\pm0.051~\rm Mr/m$ л, контрольной группы — $0.55\pm0.073~\rm Mr/m$ л.

В результате проведенных исследований установлено, что разработанная вакцина против инфекционных пневмоэнтеритов «БольшеВак» активизирует исследуемые показатели клеточного и гуморального иммунитета у вакцинированных стельных коров.

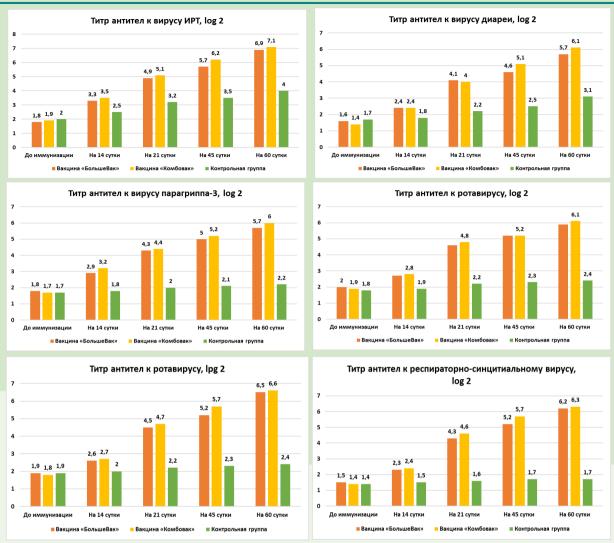
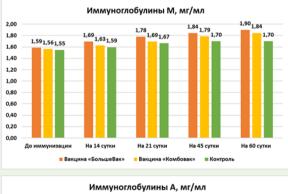


Рисунок 3. — Титр противовирусных антител в пробах сыворотки крови коров, иммунизированных вакцинами против инфекционных пневмоэнтеритов





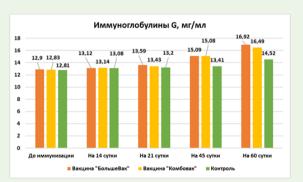


Рисунок 5. – Динамика иммуноглобулинов в сыворотке крови коров, иммунизированных вакцинами против инфекционных пневмоэнтеритов

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что разработанная вакцина против инфекционных пневмоэнтеритов «БольшеВак» по исследуемым по-

казателям не уступает вакцине-аналогу («Комбовак»). Исследуемые вакцины против инфекционных пневмоэнтеритов активизируют синтез показателей клеточного и гуморального иммунитета.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Диагностика пневмоэнтеритов молодняка крупного рогатого скота в Республике Беларусь / А. Н. Притыченко [и др.] // Ученые записки УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины» : науч.-практ. журнал. Витебск, 2012. Т. 48, вып. 1. С. 54–59.
- 2. Карпуть, И. М. Иммунная реактивность и болезни телят : монография / И. М. Карпуть, С. Л. Борознов ; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. Витебск : ВГАВМ, 2008. 289 с.
- 3. Клеточный и гуморальный иммунный ответ у коров, иммунизированных вакцинами против инфекционных пневмоэнтеритов / П. А. Красочко [и др.] // Научные основы производства и обеспечения качества биологических препаратов: материалы Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых / под ред. чл.-кор. РАН А.Д. Забережного. М., 2022. С. 40–49.
- 4. Корсак, Г. И. Вирусные пневмоэнтериты телят в сельскохозяйственных организациях Республики Беларусь / Г. И. Корсак, А. Г. Макаревич; науч. рук. Я. П. Яромчик // Студенты науке и практике АПК: материалы 104-й Междунар. науч.-практ. конф. студентов и магистрантов, г. Витебск, 23 мая 2019 г. / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. Витебск: ВГАВМ, 2019. С. 137–138.
- 5. Красочко, П. А. Особенности распространения факторных инфекций телят при промышленном ведении животноводства в Беларуси / П. А. Красочко, А. В. Притыченко, А. Н. Притыченко // Ветеринарный журнал Беларуси. 2018. N 2. C. 32—35.
- 6. Красочко, П. А. Анализ эпизоотической ситуации в животноводческих хозяйствах Республики Беларусь по инфекционным пневмоэнтеритам телят / П. А. Красочко, М. А. Понаськов // Актуальные проблемы лечения и профилактики болезней молодняка :[Электронный ресурс] материалы Междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 3–5 ноября 2021 г. / УО ВГАВМ; редкол. : Н. И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. Витебск : ВГАВМ, 2021. С. 61—65.
- 7. Красочко, П.А. Серологический мониторгинг вирусных пневмоэнтеритов крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Беларусь / П.А. Красочко, М.А. Понаськов, П.П. Красочко // Ученые записки Учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины»: науч.-практ. журнал. Витебск, 2022. Т. 58, вып. 1. С. 26—30.
- 8. Могиленко, А. Ф. Иммунный статус молодняка крупного рогатого скота при внутренних незаразных болезнях и его коррекция: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук: 16.00.01 / А. Ф. Могиленко; Ленинградский ветеринарный институт. Витебск, 1990. 48 с.
- 9. Подбор инактивантов и адъювантов при конструировании поливалентной вакцины против вирусных пневмоэнтеритов телят / П. А. Красочко [и др.] // Ученые записки Учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины» : науч.-практ. журнал. Витебск, 2022. Т. 58, вып. 1. С. 21—26.
- 10. Понаськов, М. А. Оптимальная иммунизирующая доза вирус-вакцины против вирусных пневмоэнтеритов "Большевак"/ М. А. Понаськов // Вестник $A\Gamma AV$. 2022. № 7 (213). С. 56—61.
- 12. Этиологическая структура пневмоэнтеритов телят в хозяйствах центрального региона Российской Федерации / О. А. Манжурина [и др.] // Ветеринарный фармакологический вестник. 2020. N = 1 (10). C. 96-105.

УДК 631.366

https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-2-53-58

Пунько А.И., кандидат технических наук, доцент ¹ **Дыба Э.В.,** кандидат технических наук, доцент ²

 1 УО «Белорусский государственный аграрный технический университет», г. Минск 2 РУП «НПЦ НАН Беларуси по механизации сельского хозяйства», г. Минск

АНАЛИЗ КОНСТРУКЦИЙ УСТРОЙСТВ ДЛЯ ВНУТРЕННЕЙ ОЧИСТКИ КОРМОВЫХ СИЛОСОВ

Резюме

В статье проанализированы технологии и конструкции существующих устройств для внутренней очистки силосов от различных физико-биологических загрязнений.

Ключевые слова: хранилище, силос, загрязнения, микотоксины, устройство очистки.

Summary

The article analyzes the technologies and designs of existing devices for internal cleaning of silos from various physico-biological contaminants.

Keywords: storage, silage, pollution, mycotoxins, cleaning device.

Поступила в редакцию 07.12.2022 г.

ВВЕЛЕНИЕ

Производство высококачественной, безопасной и конкурентоспособной продукции в сельском хозяйстве невозможно без должного внимания к вопросам производства кормов. При этом важная роль отводится их качеству, в частности, питательной ценности и отсутствию инородных загрязнений, в т.ч. биологического происхождения.

На молочно-товарных фермах и особенно на свиноводческих и птицеводческих комплексах для хранения комбикормов широко используются хранилища в виде сборных металлических бункеров (силосы). В процессе их эксплуатации на внутренней поверхности оборудования, особенно на конусных частях, создаются участки с плотными образованиями. Среди основных причин - образование конденсата (зимой), появление мест протеканий изза негерметичности конструкции, попадание влаги во время загрузки бункера материалом. В теплый период с течением времени могут возникнуть очаги проросшей зерновой массы, мха, плесени.

В процессе хранения в результате биологических изменений зерно, комбикорма снижают свою питательную ценность из-за появления патогенной микрофлоры, размножения и дальнейшего распространения зерновых вредителей. Осо-

бую опасность представляет заражение кормов микотоксинами. Они влияют на организм животного многими способами, самый существенный из которых – ослабление иммунной системы, что может привести к различным проблемам, включая учащение появления отдельных болезней (мастит, метрит, задержка плаценты и т.д.). Микотоксины также могут поражать различные желудочно-кишечного тракта, печень и иммунную систему, существенно влияют на продуктивность и в экстремальных случаях приводят к смерти. Эти токсичные продукты могут накапливаться в технологическом оборудовании производственных линий, поскольку чистка и санация этого оборудования, как правило, проводится редко [1].

Для предупреждения развития и накопления патогенных микроорганизмов, возбудителей инфекционных болезней, с целью снижения уровня бактериологической обсемененности необходимо проводить ветеринарно-санитарные мероприятия и регулярную дезинфекцию оборудования для хранения кормов. Очистка внутренней поверхности силоса необходима не только для уничтожения благоприятной среды существования и размножения зерновых вредителей, но и для удаления поверхностного слоя зерновой пыли, что существенно снижает угрозу пожара и взры-

ва, повышает точность работы измерительных приборов (термодатчиков, влагомеров, сигнализаторов уровня).

В настоящее время в нашей республике внутренняя очистка емкостных хранилищ на молочно-товарных фермах и комплексах не производится. Состояние внутренней поверхности данного оборудования с точки зрения биологической безопасности вызывает серьезные нарекания. А в условиях постоянного замещения хранимого корма по мере использования происходит его повторное заражение.

Поэтому вопрос применения устройств для эффективной очистки внутренних поверхностей кормовых силосов в соответствии с ветеринарно-санитарными требованиями является актуальным и требующим изучения.

Для оценки существующих технологий и технических решений, а также определения дальнейшего направления совершенствования существующих конструкции устройства очистки проведен анализ разработок, применяемых в этой области.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Важность существующей проблемы неоднократно освещалась в отечественной и зарубежной печати. Известный научный тематический журнал о мукомольном и зерновом производстве «Global Milling» ставит проблему очистки емкостных хранилищ в череду важнейших, особенно в условиях возрастающих случаев вспышек инфекционных заболеваний на животноводческих и птицеводческих предприятиях [2].

Особо необходимо отметить актуальность данной проблемы в свете требова-

ний Технического регламента Таможенного союза ТР ТС 015/2011 «О безопасности зерна», в котором отражены обязательные для применения и исполнения требования к зерну и связанные с ними требования к процессам производства, хранения, перевозки, реализации и утилизации в целях защиты жизни и здоровья человека, имущества, окружающей среды, жизни и здоровья животных и растений. Аналогичные требования изложены и в проекте Технического регламента Таможенного союза «О безопасности кормов и кормовых добавок».

Литературные источники свидетельствуют, что разработки специализированных устройств для очистки силосов от остатков материалов ведутся более 20 лет [3]. Самый распространенный сегодня способ очистки емкостных хранилищ – это очистка вручную с привлечением промышленных альпинистов и подъемной техники. Однако такие работы очень трудоемки и затратны. Очистка силосов является опасным для здоровья альпинистов видом работ, требует применения специального снаряжения и оборудования, четкого соблюдения правил техники безопасности. В отличие от обычных высотных работ, во время очистки силосов работникам приходится выполнять трудоемкие задачи в условиях замкнутого сильно запыленного пространства, применять противогазы с целью обеспечения чистым воздухом. Также необходимо организовать безопасную (низковольтную) систему освещения и использовать индивидуальные компактные осветительные приборы (рисунок 1).

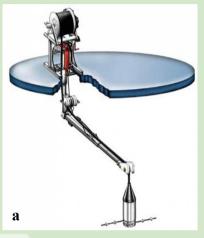


Рисунок 1. — Очистка емкостного зернохранилища промышленным альпинистом вручную

Ряд известных зарубежных фирмпроизводителей предлагают на рынке свои технические решения этой проблемы.

В устройстве GIRONET, разработанном французской компанией «Standard industrie», используется механический манипулятор со сменными рабочими органами, барабан для намотки шланга и гидрав-

лический агрегат либо пневмоустановка [4]. Механизм, состоящий из шарнирного рычага с рабочим органом, находится внутри силоса, оператор же управляет устройствами, располагаясь на крыше силоса, при помощи установки дистанционного управления (рисунок 2).





а – общий вид устройства;б – применяемый рабочий орган

Рисунок 2. – Устройство GIRONET для внутренней очистки силосов и емкостных хранилищ

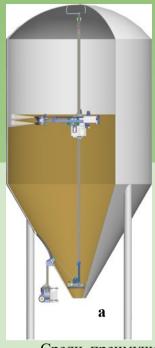
Благодаря вращению шарнирного рычага на 360° и возможности очистки емкостей на глубину до 50 м система GIRONET может использоваться на силосах практически всех видов. Использование пневматической или гидравлической систем привода рабочих органов предотвращает риск взрыва, повышает безопасность работ и не повреждает стенки силосов. В качестве отбойных инструментов, в зависимости от типа и свойств налипшего материала, используются стальные и латунные цепи или пластиковые щетки. Применение данной системы исключает необхо-

димость нахождения человека внутри очищаемого пространства, что гарантирует полную безопасность для его жизни и здоровья. Однако это устройство обеспечивает в первую очередь сводообрушение зависшего материала без возможности воздействия на биологические загрязнения.

Компания «Silo-RoBoFox» (Германия) предлагает передвижной пункт, оснащенный роботизированным манипулятором с гидравлической мойкой высокого давления и дистанционным управлением (рисунки 3, 4) [5].



Рисунок 3. — Общий вид передвижного пункта для внутренней очистки силосов компании «Silo-RoBoFox» (Германия)





а – схема конструкции; б – манипулятор с гидравлическими насадками

Рисунок 4. – Роботизированный манипулятор очистки бункеров компании «Silo-RoBoFox» (Германия)

Среди преимуществ данной системы можно отметить следующие:

- полная безопасность для операторов, так как применение оборудования исключает необходимость присутствия человека внутри силоса;
- возможность регулирования интенсивности воздействия на материал в широком диапазоне;
- небольшая масса, легкость транспортировки и хранения;
- наличие антистатических свойств, предотвращающих риск возникновения искры;
- простота установки и эксплуатации: достаточно двух операторов для установки системы и одного оператора для ее работы.

Главным недостатком устройства является высокая стоимость (более 40 000 евро), а также сложность конструкции, ограниченность применения из-за различия геометрии используемых кормовых силосов.

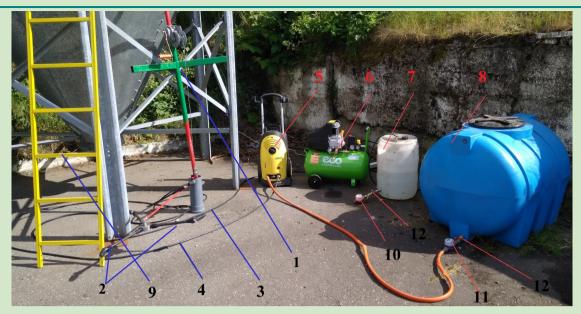
В РУП «НПЦ НАН Беларуси по механизации сельского хозяйства» в рамках научного проекта «Исследование процесса внутренней очистки бункеров для хранения кормов на животноводческих фермах от физико-биологических загрязнений с обоснованием конструктивно-кинематических параметров устройства обработки» (ГПНИ «Качество и эффективность агропромышленного производства») разработана конструкция макетного устройства

для очистки и дезинфекции внутренней поверхности бункеров (силосов) от остатков кормов.

Оно состоит из манипулятора 1, оснащенного тремя пневмогидравлическими насадками 2, к которым подводятся шланги высокого давления для подключения к пневматической 3 и гидравлической 4 магистралям, мойка высокого давления 5, компрессора 6, емкости для дезинфицирующего раствора 7 со счетчиком расхода 10, резервуара для омывающей жидкости 8 со счетчиком расхода 11, лестницы 9, шаровых кранов 12. Общий вид установки представлен на рисунке 5.

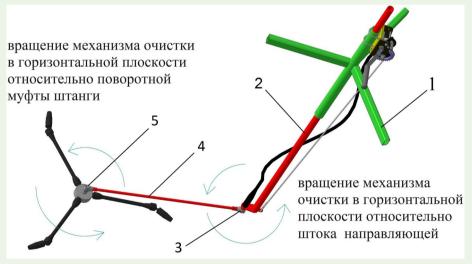
Манипулятор (рисунок 6) представляет собой сборную конструкцию, состоящую из направляющей 1, в верхней части которой установлена лебедка, предназначенная для опускания и подъема штока. В нижней части штока 2 смонтирован штуцер с двумя быстросъёмными соединениями. К внешнему соединению штуцера присоединяется пневматическая или гидравлическая магистрали высокого давления, к внутреннему — поворотная муфта 3, обеспечивающая вращение механизма очистки на 360°.

Две поворотные муфты 3 и 5, установленные на концах штанги 4, обеспечивают двойное вращение механизма очистки в горизонтальной плоскости: первое — относительно штока 2 направляющей 1, второе — относительно поворотной муфты 5 штанги 4.



1 — манипулятор; 2 — пневмогидравлические насадки; 3, 4 — шланги подключения пневматической и гидравлической магистралей; 5 — насос высокого давления; 6 — компрессор; 7 — емкость для дезинфицирующего раствора; 8 — резервуар для омывающей жидкости; 9 — лестница; 10 — счетчик расхода дезинфицирующего раствора; 11 — счетчик расхода омывающей жидкости; 12 — кран шаровой

Рисунок 5. — Общий вид устройства для внутренней очистки бункеров для хранения кормов



1 — направляющая; 2 — шток; 3 и 5 — поворотные муфты; 4 — штанга

Рисунок 6. - Манипулятор

По результатам испытаний [6] разработанная установка обеспечивает технологическую очистку внутренней поверхности бункера от остатков кормов и патогенной микрофлоры. С учетом того, что в процессе работы используется мойка высокого давления с грязевой фрезой, достигается требуемое качество и производительность. Недостатком предлагаемой конструкции является сложность очистки конической (нижней части) поверхности бункеров, а наилучшие результаты достигаются на цилиндрической вертикальной поверхности.

Результаты проведенных исследований показали, что разработанная макетная установка устройства обработки бункеров

для хранения кормов обеспечивает очистку внутренней поверхности бункеров (силосов) от остатков кормов, патогенной микрофлоры, мха, плесени, что в свою очередь позволяет сохранить качество кормов в емкостных хранилищах и продлить срок эксплуатации оборудования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ существующих способов и технических средств показал наличие широкой гаммы устройств, применяемых для очистки внутренней поверхности емкостных хранилищ: от ручной механической

очистки до мобильных автоматизированных систем.

Учитывая разнообразие физикомеханических свойств загрязнений внутри силосов и различие их конструкций, наиболее перспективной конструктивнотехнологической схемой устройства обработки будет использование манипулятора со сменными рабочими органами. Это позволит выполнить сводообрушение материала при механической очистке или гидравлическую промывку с моюще-дезинфицирующими раствором при санитарной обработке.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Головня, Е. Я. Распространение микотоксинов в кормах для KPC / Е. Я. Головня // Комбикорма. -2013. -№ 2. -C. 63–65.
 - 2. Deep cleaning your silo: keep them clean and pest-tree // Global Milling. 2015. V. 2.
- 3. Юдин, В. М. Применение современных ресурсосберегающих технологий очистки машин и оборудования в сельском хозяйстве / В. М. Юдин. М. : Информагротех, 1998. 48 с.
- 4. Каталог разработок фирмы Gironet [Электронный ресурс] Режим доступа: http://www.standard-industrie.com. Дата доступа: 02.12.2022.
- 5. Каталог разработок фирмы Silo-RoBoFox [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.silo-robofox.de. Дата доступа: 02.12.2022.
- 6. Исследование процесса внутренней очистки бункеров для хранения кормов на животноводческих фермах от физико-биологических загрязнений с обоснованием конструктивно-кинематических параметров устройства обработки: отчет о НИР (заключ.) / РУП «НПЦ НАН Беларуси по механизации сельского хозяйства». Минск, $2018. N_{\rm P}$ ГР 20171637.



УДК 619:616-006+619:579:873.21

https://doi.org/10.47612/2224-1647-2022-2-59-69

Лысенко А.П., доктор ветеринарных наук, профессор Кучвальский М.В., младший научный сотрудник Притыченко А.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент Красникова Е.Л., научный сотрудник Аникевич Н.Ю., студент Аникевич Н.Ю., студент

 1 РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск 2 Белорусский государственный университет, г. Минск

КОНТАМИНАЦИЯ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ БЫЧЬИХ СЫВОРОТОК ТРАНСФОРМИРОВАННЫМИ МИКОБАКТЕРИЯМИ ТУБЕРКУЛЕЗА

Резюме

В коммерческих сериях эмбриональных сывороток (FBS) обнаружен геном микобактерий туберкулеза (МБТ) и выделены МБТ с дефектной клеточной стенкой (cell wall deficient — CWD), что явно связано с иироким распространением латентной туберкулезной инфекции, не выявляемой туберкулином и традиционными бактериологическими методами. Серьезность проблемы такой контаминации подтверждена выделением
CWD МБТ из живых и инактивированных вирус-вакцин, которые получались с применением FBS. Изоляты из
FBS и вакцин демонстрировали присущие CWD МБТ адаптивные свойства, выдерживали экстремальное
нагревание и действие химических веществ.

Указано на необходимость контроля FBS на присутствие генома МБТ и путем посева на специальную питательную среду после инкубации в стимуляторе роста, так как контаминированные вакцины могут повышать риск неопластических процессов, а у крупного рогатого скота в определенных случаях— индуцировать реакции на туберкулин.

Ключевые слова: латентный туберкулез, дефектная клеточная стенка, эмбриональные бычьи сыворотки.

Summary

In commercial lots of fetal bovine serum (FBS), the tuberculosis mycobacteria (MTB) genome was detected and with cell wall deficient (CWD) MTB were isolated. It is clearly associated with the widespread latent tuberculosis infection that is not detected by tuberculin test and traditional bacteriological methods. The seriousness of the problem of such contamination was confirmed by the isolation of CWD MTB from live and inactivated virus vaccines that were obtained using FBS. Isolates from FBS and vaccines demonstrated adaptive properties inherent in CWD MTB, withstood extreme heating and chemical action.

It is indicated that it is necessary to control FBS for the presence of the MTB genome and by inoculating on the special nutrient medium after incubation in the growth stimulant due to the risk of neoplastic processes increased by contaminated vaccines, and due to induced reactions to bovine tuberculin in certain cases.

Keywords: latent tuberculosis, deficient cell wall, fetal bovine sera.

Поступила в редакцию 13.12.2022 г.

ВВЕДЕНИЕ

Вирусы для приготовления вакцин выращивают на культурах клеток (КК). В состав культуральной питательной среды, как правило, включают фетальную бычью сыворотку (fetal bovine serum – FBS), содержащую необходимые факторы роста [1].

FBS также называют эмбриональной сывороткой, хотя чаще ее получают в поздний плодный период. В вирусологии используются также сыворотки крови молодых бычков (до 3 лет).

Как правило, партия FBS объединяет материал с разных ферм, и если в нее попадает сыворотка от инфицированного животного, вся партия может быть контаминирована. Для стерилизации FBS трехкратно фильтруют, используя на заключительном этапе фильтр с порами 100 нм. Дополнительно FBS может быть простерилизована гамма-облучением (до 25 кГр).

FBS проверяют на отсутствие целого ряда патогенов [2]. Вместе с тем, сообщается о контаминации FBS, в частности пе-

стивирусами [3, 4, 5]. Учитывая, что реализуемые на мировом рынке объемы FBS заметно превосходят официальные данные по ее заготовке, не исключается фальсификация продукта, например, путем добавления бычьего сывороточного альбумина, воды и ростовых факторов. Нередко FBS получают в странах с неблагоприятным инфекционным статусом стад-доноров, а реализуют как произведенную в благополучных регионах [5, 6]. Все это повышает риск возможной контаминации FBS, в особенности слабо изученными или трансформированными инфекционными агентами, а рекомендуемые методы контроля не всегда позволяют выявить контаминацию. первую очередь это касается туберкулезной инфекции, которую рекомендуют исключать классическими методами без учета изменчивости микобактерий туберкулеза (МБТ) [2]. Сейчас уже достоверно известно, что МБТ могут образовывать фильтрующиеся вирусоподобные [7] и спороподобные формы [8], существовать в виде бактериальных полиморфных некислотоустойсивых (НКУ) форм (с дефектной клеточной стенкой – cell wall deficient – CWD) [9] и даже в виде ультрамелких термостабильных форм, способных проходить через ультрафильтры нанометрового диапазона [10]. Это выглядит необычно с позиций мономорфизма МБТ, но вполне адекватно с точки зрения происхождения МБТ, которые относятся к порядку Actinomycetales. Его представители могут развиваться стадийно, формируя ветвящийся мицелий, распадающийся на отдельные клетки, образуют гидрофобные, термоустойчивые споры, активизирующиеся при повышении влажности стимулирующей дыхание, актиномицеты синтезируют ферменты и имеют локусы в РНК и ДНК, определяющие образование ростовых трубок. Также характерным является образование скопление переплетенных нитевидных форм с колбовидными утолщениями на концах.

В XX веке, как и ранее, туберкулез крупного рогатого скота был широко распространен [11]. В основу борьбы с болезнью было положено выявление зараженных особей туберкулином и удаление их из стад. Критериями оздоровления считаются до сих пор отрицательные результа-

ты туберкулинизации в стаде, отсутствие видимых туберкулезных изменений в тканях при ветсанэкспертизе туш и отрицательные результаты бактериологического посева и биологической пробы [12. 13]. Однако даже по представлениям конца прошлого века это не гарантирует отсутствия в стаде животных, инфицированных МБТ. Чувствительность туберкулиновой пробы не достигает 100 % [14], а до 5 % зараженных животных вообще могу быть анергичны к туберкулину [15]. Более того, постоянное проведение противотуберкулезных мероприятий приводит к санации среды обитания животных и снижению риска попадания в организм больших доз вирулентного возбудителя, а проникающие единичные МБТ переводятся иммунной системой в дормантное состояние, в L-, CWD-формы, предотвращая развитие макроскопических туберкулезных изменений и клинического проявления болезни [16, 17]. Такая латентная инфекция может незаметно протекать пожизненно, так L-(CWD) формы практически не индуцируют гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) к стандартному туберкулину [18, 19, 20], и инфицированные животные могут длительно оставаться не выявленными. Показателем того, что скрытая туберкулезная инфекция может быть в стадах стран, которые давно считаются свободными от туберкулеза крупного рогатого скота, может быть и факт обнаружения ДНК M. bovis в ультрапастеризованных молочных продуктах из этих стран [21, 22].

Целью работы являлось исследование фетальных бычьих сывороток, живых и инактивированных вирусных вакцин с использованием полимеразной цепной реакции и методов выявления трансформированных микобактерий туберкулеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали случайным образом отобранные:

- 4 длительно хранившиеся при минус 20 °C FBS ГУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии» серий №№ 51 (изг. 05/2001), 030301/к 847 (до 03. 2002), с 268 к205 (до 12.93), BN (до 12.94);
- «нормальную» сыворотку крупного рогатого скота (серия NBS);

- 3 серии FBS для выращивания КК № 1 «Bioclot» (Бразилия) с. 2177 (до 06/2019), № 2 «Gibco» (Бразилия) с. 2260087, (до 08/2025), № 3 Bioclot 1 с. 20100117 (до 10 2022 г.);
 - 1 серию «живой» вакцины «С»,
- 3 серии вакцины «SVC» (1 до 2023/04/11, 2 до /2023/08/07, 3 до 2023/08/05), инактивированной β -пропиолактоном (вакцины получены на культурах клеток, выращенных с добавлением FBS).

Для посева FBS отбирали одноразовыми шприцами и смешивали (1:2) со стимулятором роста MycCel DW [23]. FBS № 1 «Віосlот» и № 2 «Gіbco» дополнительно фильтровали через Millex GP 0.22 µm, фильтрат смешивали (1:2) со стимулятором роста MycCel DW.

При посеве вакцин использовали флаконы, из которых с соблюдением стерильности было отобрано содержимое для проведения вакцинации. Из 5 флаконов каждой серии вакцины, а также с 5 пустых стерильных флаконов (контроль) были сделаны смывы (1,3–1,4 мл) стимулятором роста ВКГ [24]. Смеси сывороток и смывы с флаконов со стимулятором роста 48 ч инкубировали при 37 °С и высевали на среду МусСеl DW [23] (по 300 мкл на 3 пробирки). Посевы инкубировали при 3 °С. При отсут-

ствии роста делали «слепые» пересевы на среде MycCel DW.

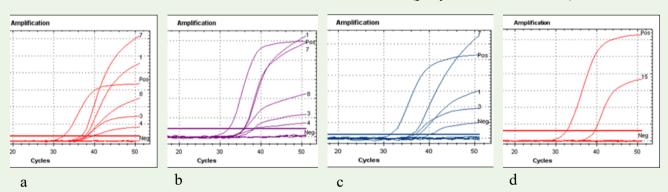
Мазки изолятов окрашивали по Kinyoun, в отдельных случаях — дополнительно дифференцирующим иммунопероксидазным методом (ДИП) [25]. Микроскопию проводили на Olimpus B51X, 10x100.

ДНК из сывороток и изолятов выделяли с помощью «РИБО-преп» (Am plisens, РФ). ПЦР проводили с использованием набора «Амплитуб» (Синтол, РФ) на Віо-Rad Real-Time CFX96.

Антигенный состав соникатов изолятов изучали в реакции иммунодиффузии (РИД), в ракетном иммуноэлектрофорезе [Axelsen et al, 1977], а также в электрофорезе в 10 или 12 % ПААГ-ДСН (*Laemmli* 1970) с последующим иммуноблоттингом. В работе использовали антисыворотки к соникатам *M. tuberculosis* H₃₇Rv, *M. bovis* 8 и изолятам, идентифицированным как CWD MБТ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ПЦР-RТ ДНК из 8 сывороток в 6 случаях дала реакцию с праймерами для комплекса *tuberculosis-bovis* и собственно *М. bovis* (рисунок 1 а, b, d). Неожиданным было то, что ДНК 3 позитивных проб реагировала еще с праймерами для *М. tuberculosis* (рисунок 1 с, таблица 1).



а – для комплекса *tuberculosis-bovis*, b, d – *M. bovis*; c – *M. tuberculosis*. Амплификаты сывороток: 1 – FBS № 1; 2 – FBS № 2; 3 – FBS 030; 4 – FBS 51; 5 – NBS; 6 – FBS 268; 7 – FBS BN; 15 – FBS № 3

Рисунок 1. – ПЦР-RT с праймерами

5 исследованных проб FBS и NBS дали рост на среде MycCel DW (таблица 1) полиморфных палочковидных форм и коккоидов с КУ элементами (рисунок 2). Серии FBS (BN, 51, 030) и NBS дали рост в I, FBS № 2/0.22 – в III, а FBS № 1 – в V «сле-

пом» пересеве. В изолятах присутствовали клетки с характерной для CWD МБТ морфологией [23], в том числе с кислотоустойчивыми (КУ) фрагментами красного цвета (рисунок 2). В изоляте из FBS № 2/0.22 наряду с нитевидными и палочковидными

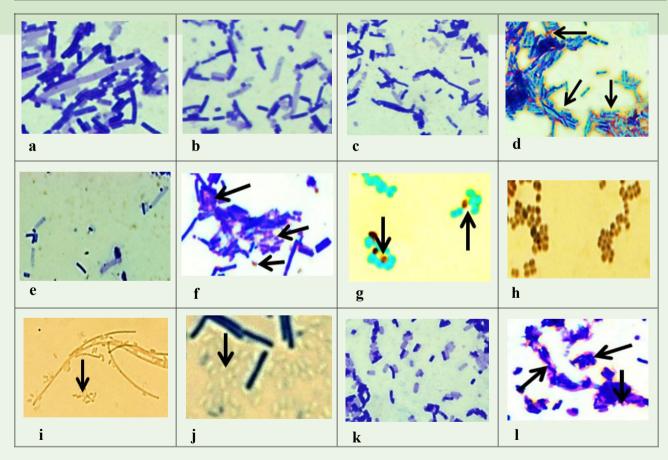
формами присутствовали «пустые» спороподобные формы, образуемые CWD МБТ в неблагоприятных условиях (рисунок 2 і, ј, стрелки). Как палочковидные формы, так и коккоиды (рисунок 2 g) содержали общие антигены с типичными МБТ и при ДИП-

окраске с Ig к *M. bovis* специфически окрашивались в коричневый цвет (рисунок 2).

Посев «живой» вирус-вакцины «С» во II «слепом» пересеве дал рост нитевидных и полиморфных палочковидных НКУ форм (рисунок 3).

Таблица 1. – Результаты исследования сывороток

Сыворотки	ПЦР с ДНК из сыворотки, С (t)	Результат посева
FBS 51	37, M. bovis	CWD МБТ
FBS 030	37–38, M. bovis, M. tuberculosis	CWD МБТ
FBS BN	36, M. bovis, M. tuberculosis	CWD МБТ
FBS № 1	37, M. bovis, M. tuberculosis	CWD МБТ
FBS № 3	38 M. bovis	не исследовали
FBS 268	отр.	не исследовали
FBS № 2	отр.	CWD M6T
NBS	отр.	CWD МБТ



Рост изолятов: a, b −FBS 51 во 2 «слепом» пересеве; c, d − FBS 030 в 1 «слепом» пересеве; e, f − FBS BN в 1 «слепом» пересеве; g, h − FBS № 1 в 5 «слепом» пересеве; i, j − FBS №2/0.22; k, l − NBS. Стрелками обозначены КУ фрагменты и защитные формы. h, i − ДИП-окраска

Рисунок 2. – Плеоморфизм изолятов из эмбриональных сывороток

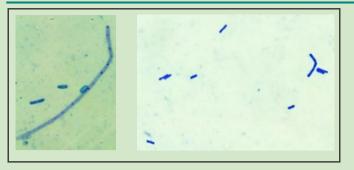
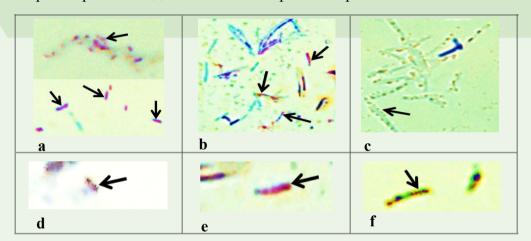


Рисунок 3. – Рост «живой» вирусвакцины «С» во II «слепом» пересеве

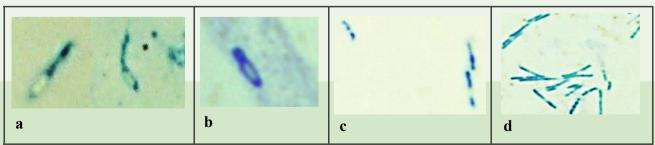
При появлении признаков роста в посевах SVC в мазках обнаруживали кластеры частично кислотоустойчивой (ЧКУ) зернистости (рисунок 4а), слабоокрашенные палочковидные формы (рисунок 4 с), а формы с КУ также палочковидные (красного цвета) фрагментами (рисунок 4 а, b, d, e, f). В первичном росте посевов вакцины SVC и в пересевах присутствовали и «пустые» клетки с характерной морфологией (рисунок 5 а, b). Вероятно, они образовывали палочковидные формы, в том числе достаточно длинные, с продольными «вставками» и зернами (рисунок 5 с, d), которые превалировали в дальнейших

пересевах. При длительном культивировании изолятов (Is SVC) в мазках появлялись «пустые» клетки и веретеноподобные клетки с КУ зернами (рисунок 6 а), которые после пересева давали рост полиморфных палочек (рисунок 6 b). Заметное накопление бактериальной массы изолята IsSVC1 начиналось через 2 суток, а у IsSVC2 и IsSVC3 — через 24 ч. В посевах вакцины SVC1 и SVC2 через 1—3 дня стал заметен тонкий «газон». Последующие пересевы дали интенсивный рост колоний. Для получения роста SVC3 потребовалось 6 «слепых» пересевов (рисунок 6 с). В посевах контрольного смыва с флаконов роста не было.

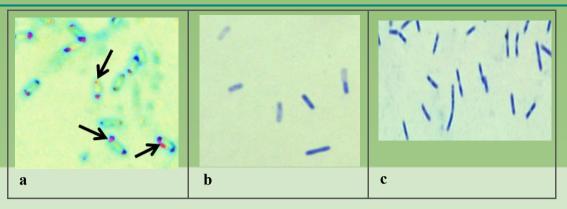


а, d - SVC1; b, e, c - SVC2, f - SVC3. Стрелками обозначены KY зерна и палочковидные формы с KY фрагментами

Рисунок 4. – Начало роста изолятов из серий вакцин «SVC»



«Пустые» клетки, образующие палочковидные формы: a – SVC1, b –SVC3; палочковидные формы со «вставками» и зернами: c – SVC1, d – SVC3 Рисунок 5. – Первичный рост посевов вакцин «SVC»

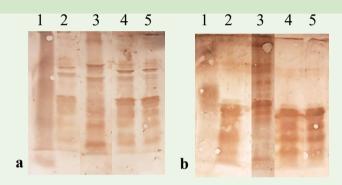


а, b – Is SVC1, c – Is SVC3. а – рост IsSVC1 без пересева, «пустые» клетки с КУ зернами (стрелки), b – рост после пересева, с – рост в 6 «слепом» пересеве

Рисунок 6. – Рост изолятов из вакцин «SVC»

То, что IsSVC имели родство с МБТ, было заметно в иммуноблоттинге, где у Is SVC антисывороткой к M. Tuberculosis H_{37} Rv выявлялось до 23–27 полипептидных антигенов, хотя их спектр нес-

колько отличался от CWD M. tuberculosis $H_{37}Rv$ и изолятов CWD MБТ из мокроты людей с латентной инфекцией, которые были почти идентичны CWD M. tuberculosis $H_{37}Rv$ (рисунок 7 a, b).



1 – M. tuberculosis H₃₇Rv; 2 – CWD M. tuberculosis H₃₇Rv; 3 – IsSVC1; 4, 5 – CWD M6T «Shum Nalk» и «Lil 0.22 μm». a – a/c κ M. tuberculosis H₃₇Rv, b – κ CWD M. tuberculosis H₃₇Rv

Рисунок 7. – ЭФ в 12 % ПААГ-ДСН и иммуноблоттинг

Принадлежность IsSVC к CWD MБТ подтверждало и то, что им были присущи уникальные адаптивные свойства МБТ [10]. После прогревания при 98 °C и обработки 3%-ной щавелевой кислотой большинство трансформировались IsSVC «пустые» «защитные» формы (рисунок 8), но после инкубации в стимуляторе роста и посева на среду MycCel DW они давали рост характерных для CWD МБТ палочковидных форм (рисунок 8). Их принадлежность к комплексу tuberculosis-bovis подтверждалась в ПЦР-RT (таблица 2), при этом выросшие IsSVC (имеют окончания типа «номер серии / режим инактивации»: 1/98°, 2/98°, 1/oxal, 2/oxal) принципиально

не отличались по полипептидному и антигенному составу.

Особый интерес представляло сравнение изолятов из FBS и вирус-вакцин. Изоляты из FBS, так же как и из вакцин, при экстремальных воздействиях образовывали «защитные» формы и меняли морфологию, что сопровождалось существенным снижением возможности получить их ДНК и идентифицировать в ПЦР (таблица 3, рисунок 9). Только помещение клеток в воду или в лизирующий буфер вызывало изменение их морфологии и появление КУ фрагментов у клеток (рисунок 9). Замораживание приводило к потере способности воспринимать окраску и появлению «за-

щитных» форм. IsFBS после размораживания и прогревания восстанавливали морфологию, хотя и отличавшуюся от первоначальной. После нагревания клеток в лизирующем буфере без предварительного

замораживания в мазках были единичные неокрашивающиеся палочки с КУ элементами, но притом количество ДНК в суспензии достигало 235 нг/мл, что позволяло проводить идентификацию в ПЦР.

Режим	Исходная	морфология	Рост через 48 часов	
инакти- вации	SVC1	SVC2	SVC1	SVC2
98 °C		1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	THE STATE OF THE S	K T T T T T T T T T T T T T T T T T T T
3% C ₂ H ₂ O ₄				

Рисунок 8. – IsSVC1 и IsSVC2 после прогревания (98°C) и воздействия щавелевой кислоты, рост обработанных суспензий на среде MycCel DW

Таблица 2. – ПЦР-RT IS6110 с ДНК изолятов

Изоляты	C (t)
Положительный контроль	29,90
IsSVC 1/98°	37,87
IsSVVC 2/oxal	38,59
K-	не обнаружено

Родство изолятов из FBS и вирусвакцин подтверждалось близким антигенным составом (рисунок 10, слияние преци-

питатов в РИД), хотя концентрация индивидуальных антигенов несколько различалась (рисунок 11).

Таблица 3. — Экстракция ДНК из IsFBS при замораживании и прогревании (концентрация ДНК, ${\rm HF/M}$ л)

Изоляты	Замораживание и прогревание в воде	Прогревание в воде	Замораживание и прогревание в лизирующем буфере	В лизирующем буфере после прогревания
Is FBS1	0	0	12	268
Is FBS2 022	14,5	191	61	235

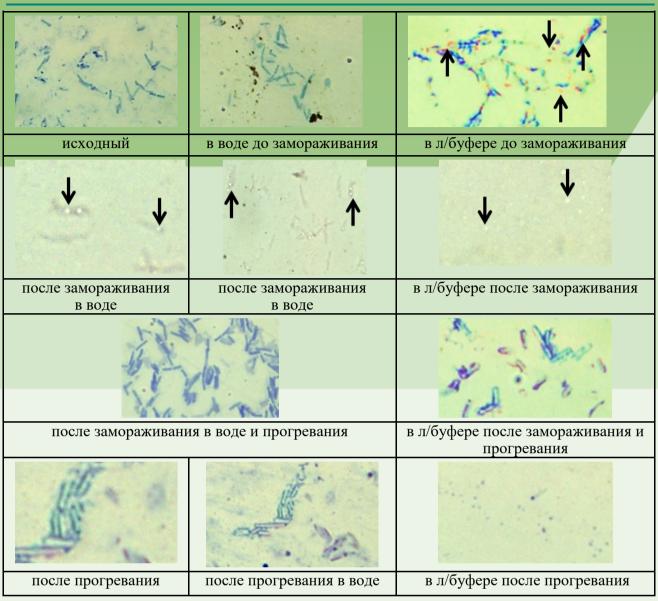
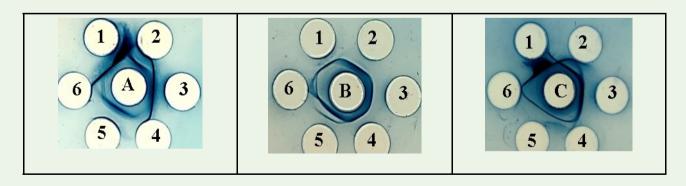
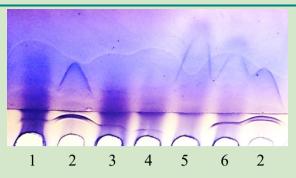


Рисунок 9. – Изменение морфологии IsFBS2 при замораживании и прогревании в воде и лизирующем буфере (л/буфере)



В центре антисыворотки: A – к CWD MБТ «Br 2»; B – к CWD МБТ «Is FLK-BLV HC»; C – к CWD МБТ «Is Hela 3 kDa»; по периферии соникаты: 1 – Is FBS2 0.22; 2 – Is Sino 2/oxal; 3 – Is SpV; 4 – Is FBS c. 30; 5 – Is FBS 50; 6 – Is NBS

Рисунок 10. – Иммунохимическое родство изолятов из FBS и вирус-вакцин



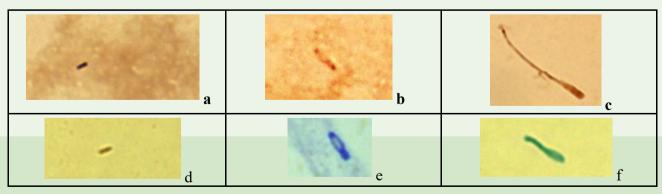
1 – IsFBS 51; 2 – IsFBS№2/ 0.22; 3 – IsSVC 1/98⁰; 4 – IsSVC 2/98⁰; 5 – IsSVC3 3; 6 – IsC. В агарозе a/c к CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv (58 мкл/см³)

Рисунок 11. – РИЭФ соникатов

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Неожиданным оказалось обнаружение генома МБТ в большинстве исследованных эмбриональных сывороток (FBS), причем полученных не только в конце 90-х годов прошлого века во время сложной эпизоотической ситуации, но и в настоящее время, причем ведущими мировыми производителями. Более того, с помощью специального стимулятора роста и питательной среды из FBS удалось выделить CWD MБТ. Вряд ли FBS получали от явно больных животных, скорее, причина заключается в широком распространении латентной туберкулезной инфекции, не выявляемой туберкулином и традиционными бактериологическими методами [26]. Так как FBS подвергают стерилизующей фильтрации, через фильтр (0,1 мкм) могла пройти ДНК и вирусоподобные формы МБТ [27], которые могли восстанавливаться в бактериальные CWD-формы даже при хранении и использовании сывороток. В мазках FBS3 Bioclot #20100117, окрашенных ДИП-методом с использовани-

ем антител к M. bovis, были обнаружены характерные клетки и антигены CWD MБТ (рисунок 12). То есть вирусоподобные формы МБТ прошли через стерилизующие фильтры и начали восстанавливаться в бактериальные формы во время транспортировки и хранения препарата при 3-8 °C, используя FBS как питательную среду. Вероятно, такой процесс в условиях выращивания культур клеток мог идти интенсивнее, вплоть до образования КУ форм [28]. Не удивительно, что CWD МБТ удалось выделить не только из «живой» вирусвакцины, но и из вакцин, инактивированных β-пропионлактоном. Изоляты, в том числе и из FBS, демонстрировали присущие CWD МБТ адаптивные свойства, выдерживая экстремальное нагревание и действие химических веществ. При этом замечено, что в определенных случаях было трудно обнаружить ДНК CWD МБТ из-за образования «защитных» форм, что могло приводить к получению отрицательных результатов ПЦР.



a, b, c – FBS3 Bioclot #20100117; f – CWD *M. bovis* BCG и выделенные d, e – из вакцины SVC3; a, b, c, d – ДИП-окраска, e, f – Kinyoun

Рисунок 12. – Похожие формы клеток различных изолятов CWD МБТ

Изоляты из вакцин и эмбриональных сывороток были похожи по антигенному составу, хотя и не всегда идентичны. Их происхождение еще вызывает вопросы, в особенности в связи с тем, что в некоторых сериях FBS и в изолятах одновременно обнаруживали геном *M. bovis* и *M. tuberculosis*.

В целом полученные результаты указывают на необходимость контроля эмбриональных сывороток на присутствие генома методом ПЦР и фильтрующихся форм МБТ путем посева на специальную питательную среду после инкубации в стимуляторе роста. Это связано с тем, что «защитные» фильтрующиеся формы МБТ явно восстанавливают жизнеспособность в условиях культивирования культур клеток в бактериальные СWD-формы, которые

могут попадать в вакцины, и в свою очередь при возникновении неблагоприятных условий (инактивация химическими веществами) циклично снова трансформироваться в «защитные» фильтрующиеся формы. Попадание таких форм в организм сразу не вызывает явных патологических процессов, но их длительная персистенция вполне вероятно может индуцировать неопластические процессы [29].

Нельзя исключать, что вирусвакцины для крупного рогатого скота, полученные с использованием контаминированной эмбриональной сыворотки, могут индуцировать у животных латентную туберкулезную инфекцию, в определенных случаях с развитием реакций на туберкулин.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Gstraunthaler, G. A plea to reduce or replace fetal bovine serum in cell culture media / G. Gstraunthaler, T. Lindl, J. van der Valk // Cytotechnology. -2013. Vol. 65, No. 5. P. 791-793.
- 2. Tests for Extraneous Agents in Viral Vaccines for Human Use // European Pharmacopoeia 10.6. The European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. Brussels, 2020. 2.6.16. P. 4579.
- 3. Genetic diversity of bovine viral diarrhea viruses in commercial bovine serum batches of Chinese origin / S.-Q. Zhang [et al.] // Infection, Genetics and Evolution. 2014. Vol. 27. P. 230–233.
- 4. Detection and genetic identification of pestiviruses in Brazilian lots of fetal bovine serum collected from 2006 to 2014 / F. L. Monteiro [et al.] // Pesq. Vet. Bras. 2018. Vol. 38, № 3. P. 387–392.
- 5. Глотов, А. Г. О контаминации импортируемой фетальной сыворотки крупного рогатого скота пестивирусами как факторе распространения вирусной диареи в условиях глобализации: мини-обзор / А. Г. Глотов, Т. И. Глотова, С. В. Котенева // Сельскохозяйственная биология. 2018. T. 53, № 2. C. 248-257.
- 6. The Impact of BVDV presence on fetal bovine serum used in the biotechnology industry. // Advances in medicine and biology / R. B. Flatschart [et al.]; ed. L. V. Berhardt. New York, 2016. Vol. 95. Ch. 4. P. 75–95.
- 7. Markova, N. Unique biological properties of Mycobacterium tuberculosis L-form variants: impact for survival under stress / N. Markova, G. Slavchev, L. Michailova // International Microbiology: The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology. $-2012. -Vol.\ 15$, $N \ge 2. -P.\ 61-68$.
- 8. Sporulation in mycobacteria / J. Ghosh [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2009. Vol. 106, № 26. P. 10781–10786.
- 9. Markova N. Cell Wall Deficiency in Mycobacteria: Latency and Persistence / N. Markova // Understanding Tuberculosis Deciphering the Secret Life of the Bacilli / ed. P.-J. Cardona. InTech, 2012. P. 193–216.
- 10. Микобактерии туберкулеза при термическом воздействии образуют защитные формы, проходящие через ультрафильтры и восстанавливающие жизнеспособность в виде СWD форм / А. П. Лысенко [и др.] // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. 2019. Т. 1, N = 1. C. 33—45.
- 11. Frith, J. History of Tuberculosis. Part 1-Phthisis, consumption and the White Plague / J. Frith // Journal of Military and Veteran's Health. $-2014.-Vol.\ 22,\ No.\ 2.-P.\ 29-35.$
- 12. Об утверждении санитарных и ветеринарно-санитарных правил по профилактике и ликвидации заболеваний, общих для человека и животных. Туберкулез : постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь и Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, 26 марта 2010 г., № 31/21 (в ред. постановления Минздрава, Минсельхозпрода

- от 15.12.2010 № 166/91) // Эталон-Беларусь [Электронный ресурс] / Нац. центр правовой информации Республики Беларусь. Минск, 2010.
- 13. Ветеринарно-санитарные правила профилактики, диагностики и ликвидации туберкулеза животных: Постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь 23.02.2018 № 32 // Эталон-Беларусь [Электронный ресурс] / Нац. центр правовой информации Республики Беларусь. — Минск, 2010.
- 14. Лысенко, А. П. Чувствительность и специфичность внутрикожной туберкулиновой и симультанной пробы при туберкулезной инфекции в стаде / А. П. Лысенко // Наше сельское хозяйство. 2016. $N \ge 6$. C. 2-6.
- 15. Выявление больного туберкулёзом крупного рогатого скота в состоянии анергии к туберкулину / А. Х. Найманов [и др.] // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2019. № 1. $C.\ 17–21$.
- 16. Кузин, А. И. Латентная туберкулезная инфекция и ее значение в эпизоотологии туберкулеза крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук / А. И. Кузин. М., 1977. 30 с.
- 17. Рубцова, И. Н. Формы персистирования микобактерий в организме животных / И. Н. Рубцова, В. С. Федосеев, Н. Г. Кириленко // Проблемы борьбы с болезнями жвачных животных в северных областях Казахстана: сб. науч. тр. Целиноград. 1986. Т. 68. С. 9–15.
- 18. Chandrasekhar, S. Studies on cell-wall deficient non-acid fast variants of Mycobacterium tuberculosis / S. Chandrasekhar, S. Ratnam // Tubercle and Lung Disease. — 1992. — Vol. 73. — № 5. — P. 273–279.
- 19. Mattman, L. H. Cell wall deficient forms: stealth pathogens / L. H. Mattman. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2001. 416 p.
- 20. Сырым, Н. С. Аллерген из Л-форм микобактерий бычьего вида для диагностики скрытой формы туберкулеза : автореф. дис. ... канд. ветернинар. наук : 16.00.03 / Н. С. Сырым. Алматы, 2004.-19 с.
- 21. Detection of Mycobacteria by Culture and DNA-Based Methods in Animal-Derived Food Products Purchased at Spanish Supermarkets / I. A. Sevilla [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2017. Vol. 8. P. 1030.
- 22. Обнаружение маркеров туберкулезной инфекции в ультрапастеризованном молоке, произведенном в разных странах / А. П. Лысенко [и др.] // Экология и животный мир. — 2021. — № 2. — C.~13—26.
- 23. Феномен изменчивости микобактерий туберкулеза и его использование для обнаружения туберкулезной инфекции / А. П. Лысенко [и др.] // Туберкулез глобальная катастрофа человечества : материалы I Междунар. заочной науч.-практ. конф., 24 марта 2014 г. / Ростов н/Д : $Pocm\Gamma MY$, 2014. С. 176—198.
- 24.~ Власенко, В. В. Туберкулез в фокусе проблем современности / В. В. Власенко. Винница : Наука, 1998.-350~с.
- 25. Выявление микобактерий туберкулеза в тканях с помощью дифференцирующей иммуно-пероксидазной окраски / А. П. Лысенко [и др.] // Туберкулез и болезни легких. 2014. № 10. C.55–58.
- 26. Латентная туберкулезная инфекция у крупного рогатого скота / А. П. Лысенко [и др.] // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. 2022. № 1. C. 11—22.
- 27. Микобактерии туберкулеза при термическом воздействии образуют защитные формы, проходящие через ультрафильтры и восстанавливающие жизнеспособность в виде СWD форм / A. П. Лысенко [u др.] // Эпизоотология Иммунобиология Фармакология Санитария. 2019. T. 1, N 1. C. 33–45.
- 28. Вирус бычьего лейкоза вирусоподобная форма микобактерий туберкулеза? / А. П. Лысенко [и др.] // Экология и животный мир. -2019. -№ 1. C. 15-24.
- 29. Clinical End-Points Associated with Mycobacterium tuberculosis and Lung Cancer: Implications into Host-Pathogen Interaction and Coevolution / Y. Tian [et al.] // BioMed Research International. 2015. Vol. 2015. P. 1–9.

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ «СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ В РЕШЕНИИ АКТУАЛЬНЫХ ПРОБЛЕМ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА», ПОСВЯЩЕННАЯ 100-ЛЕТИЮ РУП «ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВЕТЕРИНАРИИ ИМ. С.Н. ВЫШЕЛЕССКОГО»





15–16 сентября Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского праздновал свой 100-летний юбилей.

100 лет — знаковый возраст для любой организации. Он подтверждает стабильность, устойчивость коллектива, вселяет уверенность в дальнейшей успешной судьбе предприятия, которое выстояло в самые сложные времена и продолжает успешно работать. Эта юбилейная дата объединяет многие поколения сотрудников: ветеранов, которые стояли у истоков, и нынешних специалистов, которые продолжают развивать ветеринарную науку.

По случаю такого значимого события в Институте прошло несколько торжественных мероприятий: открытие памятника Сергею Николаевичу Вышелесскому, талантливому педагогу и ученому, который внес весомый вклад в развитие ветеринарной науки, чье имя присвоено институту, а также Международная научно-практическая конференция «Современные достижения в решении актуальных проблем агропромышленного комплекса».

Во время торжественной церемонии открытия скульптуры директор института В.В. Жалдыбин вручил юбилейные нагрудные знаки «100 лет» ветеранам и сотрудникам, внесшим значительный вклад в популяризацию института и его разработок, автору скульптуры Хизри Асадулаеву, главе администрации Фрунзенского района города Минска Сергею Шкрудневу и другим.









В работе Международной научно-практической конференции «Современные достижения в решении актуальных проблем агропромышленного комплекса» приняли участие около 150 специалистов из научных институтов и высших учебных заведений Республики Беларусь и ближнего зарубежья: различных регионов Российской Федерации, Узбекистана, Казахстана, Приднестровской Молдавской Республики. На торжественном заседании присутствовали Министр сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь Игорь Вячеславович Брыло, заместитель министра Иван Иванович Смильгинь, заместитель председателя президиума НАН Беларуси Петр Петрович Казакевич, глава администрации Фрунзенского района Минска Сергей Анатольевич Шкруднев, а также главный ветеринарный врач Государственного пограничного комитета Вадим Геннадьевич Голынец, которые вручили награды ведущим ученым института.

Руководство и коллектив также поздравили директора организаций, входящих в состав РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству», иностранные гости и наши белорусские коллеги.

После торжественной части состоялись пленарное и секционные заседания, на которых были озвучены актуальные вопросы в области ветеринарии: эпизоотический процесс при инфекционных и паразитарных болезнях животных; зоонозы и особо опасные болезни; современные методы и средства диагностики болезней животных; ассоциативные болезни инфекционной, паразитарной и незаразной этиологии; инновационные ветеринарные препараты; проблемы антибиотикотерапии и безопасности животноводческой продукции; биотехнологические аспекты в современном животноводстве.

Открыл пленарное заседание кандидат ветеринарных наук, доцент, директор РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» Жалдыбин Владимир Викторович, который представил ретроспективный анализ достижений и перспективы развития Института экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского. Далее с докладами выступили Гулюкин Алексей Михайлович, доктор ветеринарных наук, директор ФГБНУ «ФНЦ Всероссийский НИИ экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН»; Ибрагимов Примкул Шолпанкулович, доктор ветеринарных наук, профессор, заместитель ректора Казахского национального аграрного исследовательского университета; Лысенко Александр Павлович, доктор ветеринарных наук, профессор РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»; Герунова Людмила Карповна, доктор

ветеринарных наук, профессор ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный институт имени П.А. Столыпина»; Герунов Тарас Владимирович, доктор биологических наук, доцент Института ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»; Гафуров Актам Гафурович, доктор ветеринарных наук, профессор Научно-исследовательского института ветеринарии Узбекистана; Батраков Алексей Яковлевич, доктор ветеринарных наук, профессор Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины; Соколова Ольга Васильевна, доктор ветеринарных наук Уральского научно-исследовательского ветеринарного института ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения РАН».

Гости имели возможность пообщаться, обсудить проблемные вопросы и наладить новые научные и творческие связи. Участниками был отмечен высокий уровень организации и проведения торжественных юбилейных мероприятий.

Многое сделано за этот столетний период, но это не предел. Коллектив РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского» увлечен своей работой и нацелен на непрерывное движение вперед. В этом большое преимущество предприятия и главный секрет многих успехов и научных открытий. Институт будет продолжать свою деятельность и развиваться.

