

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:

Ломако Ю.В. – кандидат ветеринарных наук, доцент

ЗАМ. ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

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

СЕКРЕТАРЬ:

Радюш И.С. – кандидат ветеринарных наук

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Бучукури Д.В. – кандидат ветеринарных наук

Згировская А.А. – кандидат биологических наук

Насонов И.В. – доктор ветеринарных наук, доцент

Новикова О.Н. – кандидат ветеринарных наук

Ястребов А.С. – доктор ветеринарных наук, доцент

НАД НОМЕРОМ РАБОТАЛИ:

Лукьянова И.А.

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

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, доцент (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»

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

СОДЕРЖАНИЕ

Насонов И.В. СРАВНИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СОРБЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПО СОРБЦИИ КРАСИТЕЛЕЙ	3
Федотов Д.Н., Кучинский М.П., Жуков А.И. ВЛИЯНИЕ ВИТАМИННО-БИОЭЛЕМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МОРФОЛОГИЮ МОЗГОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПОЧЕЧНИКОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА	9
Логвинов О.Л., Кныш Н.В. ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «ПРОБИОН-ФОРТЕ» НА ОРГАНИЗМ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ	14
Горлова О.С. ФАРМАКОДИНАМИКА ВАХТЫ ТРЕХЛИСТНОЙ В ОРГАНИЗМЕ ПОРОСЯТ	19
Довнар Д.В., Войтка Д.В., Каплич В.М. БИОЛОГИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ КОНТРОЛЯ ЧИСЛЕННОСТИ КРОВОСОСУЩИХ МОШЕК (DIPTERA: SIMULIIDAE) В ВОДОТОКАХ БЕЛОРУССКОГО ПООЗЕРЬЯ	28
Шендрик Т.В. СООБЩЕСТВО МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ И ИХ ГЕЛЬМИНТОВ В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗАЦИИ	34
Хоченков А.А. НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ ОТКОРМОЧНОГО МОЛОДНЯКА СВИНЕЙ В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ	40
Шендрик Т.В. СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ ГЕЛЬМИНТОВ И ИХ ХОЗЯЕВ, МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ, НА ТЕРРИТОРИИ ГОРОДА МИНСКА	45
Гудзь В.П., Белявский В.Н. О СИСТЕМЕ МЕНЕДЖМЕНТА БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ НА ПРИНЦИПАХ НАССР (ОБЗОР)	51
Тяпша Ю.И., Дубаневич О.В., Андрусевич А.С., Стрельченя И.И. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕКЦИЯ ГЕНОМА <i>SALMONELLA TYPHIMURIUM</i>	56
Бирюк Е.Н., Кручёнок Т.В., Пстыга Т.Г., Черник М.И., Захарик Н.В., Гуринович О.Л. <i>LACTOBACILLUS REUTERI</i> – ПРЕДСТАВИТЕЛЬ МИКРОФЛОРЫ ПЧЕЛЫ МЕДОНОСНОЙ <i>APIS MELLIFERA L.</i>	63
Костюк Н.И., Стрельченя И.И., Кныш Н.В., Ткалич Е.С., Барсукова М.В. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПЕРЕВИВАЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ 3 КГ КАК СУБСТРАТА В ПРОИЗВОДСТВЕ БИОПРЕПАРАТОВ	70
ПАМЯТИ ДОКТОРА ВЕТЕРИНАРНЫХ НАУК, ПРОФЕССОРА ОБЪЕДКОВА ГЕОРГИЯ АНТОНОВИЧА	75

CONTENTS

Nasonov I.V. COMPARATIVE ACTIVITY OF SORBENT PREPARATIONS FOR THE SORPTION OF DYES	3
Fiadotau D.N., Kuchinsky M.P., Zhukov A.I. THE INFLUENCE OF BIOELEMENT PREPARATIONS ON THE HISTOLOGICAL OF THE BRAIN MATTER OF THE ADRAL CELLULAR CATTLE	9
Logvinov O.L., Knysh N.V. INFLUENCE OF FOOD SUPPLEMENT «PROBION-FORTE» ON THE ORGANISM OF CHICKEN-BROILERS	14
Gorlova O.S. PHARMAKODINAMIK OF WATCH THREE-LEAVED IN THE ORGANISM OF PIGS	19
Dovnar D.V., Voitka D.V., Kaplich V.M. BIOLOGICAL AGENTS OF CONTROL OF THE NUMBER OF THE BLOOD-PRESSING CATS (DIPTERA: SIMULIIDAE) IN WATERWAYS OF THE BELARUSIAN LAWNER	28
Shendrik T.V. COMMUNITY OF MOUSE RODENTS AND THEIR HELMINTHS UNDER THE CONDITIONS OF URBANIZATION	34
Khochenkov A.A. METABOLIC DISCRERS IN THE ORGANISM OF THE YOUNG PIGS IN THE CONDITIONS OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY	40
Shendrik T.V. SEASONAL DYNAMICS OF THE NUMBER OF HELMINTS AND THEIR OWNERS – MUSCLE RODENTS ON THE TERRITORY OF THE CITY OF MINSK	45
Gudz V.P., Belyavsky V.N. ON THE SYSTEM OF FOOD SAFETY MANAGEMENT ON THE PRINCIPLES OF HACCP (REVIEW)	51
Tyapsha Yu.I., Dubanevich O.V., Andrusевич A.S., Strelchenya I.I. MOLECULAR-GENETIC DETECTION OF GENOM <i>SALMONELLA TYPHIMURIUM</i>	56
Biryuk E.N., Kruchenok T.V., Pstyga T.G., Chernik M.I., Zakharik N.V., Gurinovich O.L. <i>LACTOBACILLUS REUTERI</i> – REPRESENTATIVE OF MICROFLORA OF BEES OF A MEDICULAR <i>APIS MELLIFERA L.</i>	63
Kostyuk N.I., Strelchenya I.I., Knysh N.V., Tkalych E.S., Barsukova M.V. QUALITY ASSESSMENT OF 3 KG CELLULAR CELLLINE AS A SUBSTRATE IN THE PRODUCTION OF BIOLOGICAL PRODUCTS	70
THE MEMORY OF DOCTOR OF VETERINARY SCIENCES, PROFESSOR OBYEDKOV GEORGE ANTONOVICH	75

Компьютерная верстка: Лукьянова И.А.

Подписано в печать 13.12.2018 г.

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

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

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

Республиканское унитарное предприятие «Информационно-вычислительный центр

Министерства финансов Республики Беларусь».

Свидетельства о государственной регистрации издателя, изготовителя,

распространителя печатных изданий № 1/161 от 27.01.2014, № 2/41 от 29.01.2014.

Ул. Кальварийская, 17, 220004, г. Минск.

Насонов И.В., доктор ветеринарных наук, доцент

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

СРАВНИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ СОРБЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПО СОРБЦИИ КРАСИТЕЛЕЙ

Резюме

В статье приведены результаты исследований сравнительной сорбционной активности препаратов «Белветсорб», «Ультрасорб», «Трепел» и «Лигсорб» в отношении метиленового синего и метиленового оранжевого.

Summary

The article presents the results of studies of the comparative sorption activity of the preparations «Belvetsorb», «Ultrasorb», «Trepel» and «Ligsorb» in relation to methylene blue and methylene orange.

Поступила в редакцию 02.11.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Применение адсорбентов микотоксинов является наиболее распространенным подходом при профилактике и лечении микотоксикозов животных. Считается, что эти вещества связывают микотоксины, предотвращая их абсорбцию. Микотоксины и агенты экскретируются через кишечник. Эффективная доза включения в рацион адсорбентов микотоксинов будет зависеть от емкости адсорбентов и степени контаминации данного корма. Высокая связывающая способность снижает дозу включения и минимизирует снижение удельного веса питательных веществ при скармливании адсорбентов. Высокая доза включения адсорбентов также может изменять физические свойства корма и нарушать такие процессы обработки корма, как, например, гранулирование, а также изменять фактическую спецификацию рациона [1, 2, 3].

Энтеросорбция – способ детоксикации кормов. В настоящее время для энтеросорбции микотоксинов применяют различные адсорбенты: минеральные, органические и смешанные по составу (активированный древесный уголь, алюмосиликаты (цеолиты, ГНКАС, глины), полимеры (холестерилламин, кросповидон), дрожжи и продукты из дрожжей. Перспективным направлением в детоксикации кормов энте-

росорбционным методом является получение адсорбентов, обладающих селективностью к микотоксинам и не сорбирующих такие микронутриенты, как витамины и микроэлементы [5].

Связывание микотоксина достигается за счет:

- физической адсорбции (относительно слабое связывание за счет взаимодействия сил Ван-дер-Ваальса и водородных связей);

- химической адсорбции, хемосорбции (более сильное взаимодействие, которое включает ионные и ковалентные связи).

Наиболее важное свойство адсорбции – физическая структура адсорбента, т.е. общий заряд и распределение заряда, размер пор и площадь доступной поверхности. С другой стороны, такие свойства адсорбируемых молекул, микотоксинов, как полярность, растворимость, размер, форма и, в случае ионизированных составляющих, распределение заряда и константа диссоциации, также играют важную роль. Поэтому эффективность каждого процесса адсорбции должна быть изучена в отношении специфических свойств адсорбируемых веществ [4].

Большинство исследований, связанных с удалением микотоксинов с использованием адсорбентов, сфокусировано на

алюмосиликатах, в основном цеолитах и гидратированных натрий-кальций-алюмосиликатах (ГНКАС), а также алюмосиликатсодержащих глинах, состоящих из алюминатов, силикатов и некоторых взаимозаменяемых ионов, главным образом ионов щелочных и щелочноземельных металлов. Глинистые минералы являются в основном слоистыми силикатами с общей химической формулой $[\text{Si}_2\text{O}_5^{2-}]_x\text{Y}$, например каолин $\text{Al}_4(\text{OH})_8 \text{Si}_2\text{O}_5$. Цеолиты состоят из тетраэдров SiO_4 и AlO_4 как двух основных строительных блоков с атомом металла в центре каждого тетраэдра. Общая химическая формула $[\text{AlSi}_3\text{O}_8^-]_x\text{Y}$, например ортоклас KAlSi_3O_8 , цеолит А $\{\text{Na}_{12}[\text{Al}_{12}\text{Si}_{12}\text{O}_{48}] \times 27\text{H}_2\text{O}\}$. Тогда как SiO_4 – электрически нейтральная единица, AlO_4 – единица, несущая один отрицательный заряд, который должен быть компенсирован положительным зарядом, обычно ионом натрия, как в цеолите А. Цеолиты сходны с молекулярным ситом так же, как и с ионообменными смолами и подходят для разграничения различных молекул по размеру, форме и заряду. ГНКАС содержат ионы кальция и протоны, которые заменяют естественно присутствующие ионы натрия. Они относятся к типу слоистых бентонитовых глин, которые состоят из слоев алюминия и кремния, связанных в порядке 1:1 или 2:1.

Активированный древесный уголь, который изготавливается пиролизом органического материала, – это очень пористый нерастворимый порошок с высоким отношением поверхность/масса (500–3500 м²/г).

С 19-го века он используется как антидот при отравлениях. В водных растворах он может эффективно адсорбировать большинство микотоксинов, тогда как различные активированные древесные угли имеют меньшую эффективность или вовсе неэффективны против микотоксикозов.

Препараты «Белветсорб» и «Ультрасорб» содержат специальным образом модифицированный активированный уголь марки АУТ-МИ (производитель Светлогорское ПО «Химволокно»). Модификация активированного угля продуктом взаимодействия двух полимеров (сульфат ацетата цел-

люлозы и хитозана), интерполиэлектролитным комплексом, с одной стороны, позволяет получить сорбент с более прочными гранулами, а с другой – придать ему амфифильные свойства и высокую поглощающую способность. Такой композит при поглощении токсических веществ способен одновременно нормализовать основные биохимические показатели организма.

Для нахождения зависимости между способностью адсорбентов связывать микотоксины и их пористой структурой необходим расчет сорбционной активности независимым методом. Как правило, в качестве экспресс-метода определения адсорбционной активности, а также удельной поверхности пористых тел широко используются методы адсорбции красителей из растворов. Наиболее часто для этих целей используются растворы метиленового синего (рисунок 1) и метиленового оранжевого (рисунок 2).

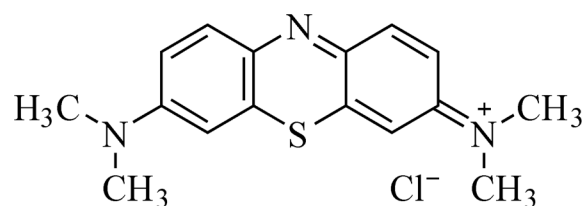


Рисунок 1. – Химическая структура метиленового синего

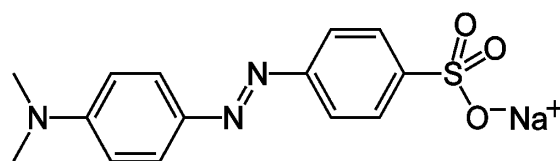


Рисунок 2. – Химическая структура метиленового оранжевого

Цель работы – провести испытания сравнительной адсорбционной активности препаратов «Белветсорб», «Трепел» и «Лигсорб» и других применяемых в Беларуси в отношении метиленового синего и метиленового оранжевого.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения фотоколориметрических исследований сорбционной активности адсорбентов по поглощению метиленового синего, предварительно требовалось построить калибровочный график. Для этого 1,5 г индикатора метиленового синего взвешивали (точность до третьего знака), помещали в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и растворяли в 200 см³ горячей дистиллированной воды. Затем раствор охлаждали, доводили дистиллированной водой до метки (массовая концентрация рабочего раствора – 1500 мг/дм³). Для построения градуировочного графика готовили растворы сравнения. В 10 мерных колб вместимостью 50 см³ каждая вводят 0,5;

1,0; 1,5; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0 см³ раствора индикатора, после чего объемы доводили водой с температурой (20±2) °С до метки. Полученные растворы содержали в 1 дм³ соответственно 15; 30; 45; 60; 90; 120; 150; 180; 210; 240 мг/дм³ индикатора. Оптическую плотность приготовленных растворов сравнения измеряли на фотоэлектроколориметре при синем светофильтре с длиной волны (λ) 400 нм в кюветах с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм. В качестве контрольного раствора применяли дистиллированную воду. По полученным данным строили градуировочный график зависимости оптической плотности от массовой концентрации растворов сравнения (рисунок 3).

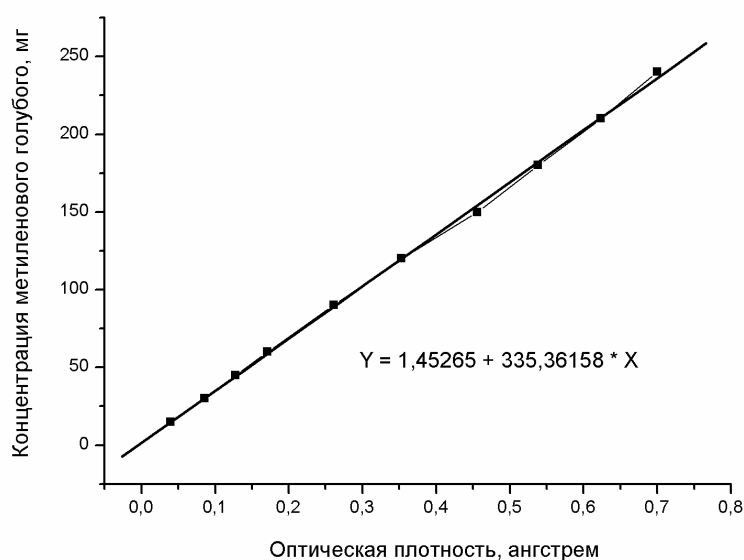


Рисунок 3. – Зависимость оптической плотности от концентрации метиленового синего в растворе

Навеску адсорбентов массой около 0,1 г, предварительно высушенных на протяжении 1 часа при температуре 100 °С, взвешивали (точность до третьего знака) и помещали в коническую колбу вместимостью 50 см³, прибавляли 25 см³ раствора индикатора, закрывали пробкой и взбалтывали на аппарате для встряхивания жидкости в сосудах в течение 20 минут. После взбалтывания суспензию переносили в пробирки для центрифугирования и центрифугировали в течение 15 минут. Затем отбира-

ли пипеткой 5 см³ осветленного раствора и определяли его оптическую плотность. Так как оптическая плотность осветленного раствора превышала 0,8 оптических единиц, то 5 см³ этого раствора переносили в мерную колбу вместимостью 50 см³ и разбавляли дистиллированной водой до метки. После этого оптическая плотность раствора укладывалась в диапазон 0,1–0,8 оптических единиц. Коэффициент разбавления, используемый при этом, равен 10. По полученному значению оптической плотности,

пользуясь формулой зависимости, рассчитанной из градуировочного графика, находили остаточную массовую концентрацию метиленового оранжевого в разбавленном растворе.

Адсорбционную активность по индикатору (X) в мг на 1 г продукта вычисляли по формуле (1):

$$X = \frac{(C_1 - C_2K) \cdot 0,025}{m}, \quad (1)$$

где C_1 – массовая концентрация исходного раствора индикатора, мг/дм³;

C_2 – массовая концентрация раствора после контактирования с адсорбентом, мг/дм³;

K – коэффициент разбавления раствора, взятого для анализа после контактирования с адсорбентом;

m – масса навески адсорбента, г;

0,025 – объем раствора индикатора, взятого для осветления дм³.

Для проведения фотоколориметрических исследований сорбционной активности адсорбентов по поглощению метиленового оранжевого предварительно требовалось построить калибровочный график. Для этого 0,15 г индикатора метиленового оранжевого взвешивали (точность до треть-

его знака), помещали в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и растворяли в 200 см³ горячей дистиллированной воды. Затем раствор охлаждали, доводили дистиллированной водой до метки (массовая концентрация – 150 мг/дм³).

Для построения градуировочного графика готовили растворы сравнения. Для этого в 10 мерных колб вместимостью 100 см³ каждая вводили 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 см³ рабочего раствора метиленового оранжевого массовой концентрации 150 мг/дм³, после чего объемы доводили водой температурой (20±2) °C до метки. Полученные растворы содержали в 1 дм³ соответственно 0,75; 1,50; 3,00; 4,50; 6,00; 7,50; 9,00; 10,50; 12,00; 13,50 мг/дм³ метиленового оранжевого. Оптическую плотность приготовленных растворов сравнения измеряют на фотоэлектроколориметре, используя светофильтр с длиной волны (λ) от 390 до 410 нм в кюветках с толщиной поглощающего свет слоя 10 мм. В качестве контрольного раствора применяли дистиллированную воду. По полученным данным строили градуировочный график зависимости оптической плотности от массовой концентрации раствора сравнения (рисунок 4).

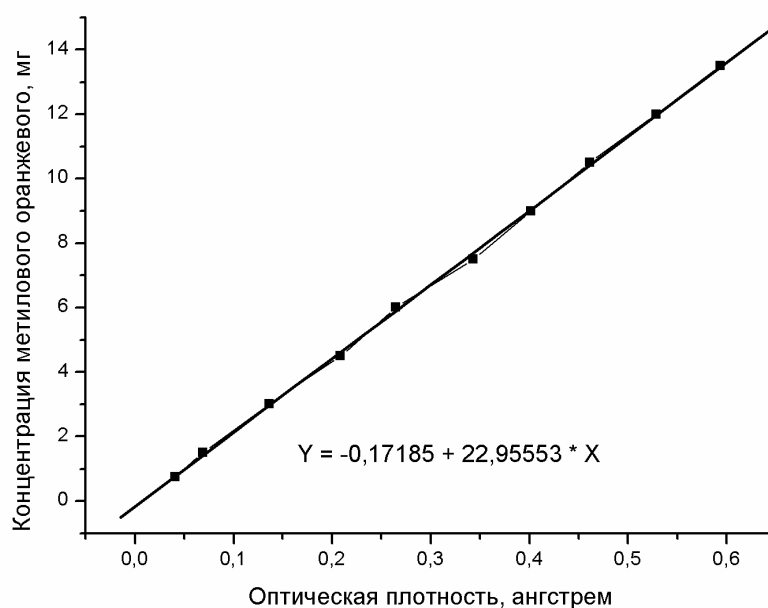


Рисунок 4. – Зависимость оптической плотности от концентрации метиленового оранжевого в растворе

Для проведения анализа готовили раствор индикатора массовой концентрации 1500 мг/дм³. Для этого 1,5 г индикатора взвешивали (точность до третьего знака), помещали в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и растворяли в 200 см³ горячей воды (70–80° С). Затем раствор охлаждали, доводили объем до метки, перемешивали.

Навески адсорбентов массой 0,09–0,11 г, предварительно высушенных в сушильном шкафу при 105 °С в течение 1 часа, взвешивали (точность до третьего знака) и помещали в конические колбы вместимостью 100 см³, прибавляли 25 см³ раствора метиленового оранжевого массовой концентрации 1500 мг/дм³, закрывали пробкой и взбалтывали на аппарате для встряхивания жидкости в сосудах в течение 20 минут.

После взбалтывания суспензии переносили в пробирки для центрифугирования и центрифугировали в течение 15 минут. Осторожно отбирали пипеткой 1 см³ осветленного раствора и переносили в мерную колбу вместимостью 100 см³. Раствор в

колбе разбавляли дистиллированной водой до метки. Коэффициент разбавления используемый при этом равен 100. По полученному значению оптической плотности, пользуясь градуировочным графиком, находили остаточную массовую концентрацию метиленового оранжевого в разбавленном растворе.

Адсорбционную активность по индикатору (X) в мг на 1 г продукта вычисляли по формуле (1).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Как следует из полученных экспериментальных данных (1), адсорбционные активности (по адсорбции метиленового синего) исследуемых адсорбентов распределились следующим образом:

- 1 – Ультрасорб – 200,1667,
- 2 – Трепел – 111,2385,
- 3 – Лигсорб – 82,2896,
- 4 – Цеолит – 38,8309,
- 5 – Белветсорб – 36,0997,
- 6 – Доломит мука – 28,4061,
- 7 – Малыш – 13,9343.

Таблица 1. – Сорбционная активность адсорбентов по адсорбции метиленового синего

Адсорбент	Масса навески адсорбента, г	Оптическая плотность, Å	Концентрация метиленового синего, мг	Сорбционная активность
Трепел	0,11	0,297	101,1	111,2385
Цеолит	0,11	0,392	132,9	38,8309
Доломит	0,112	0,405	137,3	28,4061
Малыш	0,114	0,424	143,6	13,9343
Белветсорб	0,116	0,393	133,2	36,0997
Ультрасорб	0,116	0,166	57,1	200,1667
Лигсорб	0,111	0,334	113,5	82,2896

В таблице 2 приведены данные активности адсорбентов по адсорбции метиленового оранжевого. Из полученных экспериментальных данных видно, что адсорбционные активности (по адсорбции метиленового оранжевого) исследуемых адсорбентов распределились следующим образом:

- 1 – Трепел – 225,9,
- 2 – Ультрасорб 140,9,
- 3 – Доломит – 97,2,
- 4 – Малыш – 70,8,
- 5 – Цеолит – 44,5,
- 6 – Белветсорб – 23,2.

Таблица 2. – Сорбционная активность адсорбентов по адсорбции метиленового оранжевого

Адсорбент	Масса навески адсорбента, г	Оптическая плотность, Å	Концентрация метиленового синего, мг	Сорбционная активность
Трепел	0,111	0,224	5,0	225,9
Цеолит	0,112	0,574	13,0	44,5
Доломит	0,111	0,473	10,7	97,2
Малыш	0,111	0,524	11,9	70,8
Белветсорб	0,111	0,616	14,0	23,2
Ультрасорб	0,112	0,386	8,7	140,9

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сорбционная активность адсорбентов по метиленовому оранжевому показала наибольшие параметры удельной поверхности у образца трепела (225,9) и ультрасорба (140,9), что подтвердилось и сорбцией красителя метиленового синего для трепела

(200,2) и ультрасорба (111,2). Разница в показателях сорбционной активности может быть связана с химической структурой красителей и, соответственно, со структурой исследуемых сорбентов. Адсорбционная активность ультрасорба связана с особенностями его пористой структуры.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жуленко, В.Н. *Ветеринарная токсикология* / В.Н. Жуленко, М.И. Рабинович, Г.А. Таланов; под ред. В.Н. Жуленко. – М.: КолосС, 2004. – 384 с.
2. Комаров, А.А. *Микотоксикозы животных: методическое пособие для профессиональной переподготовки работников АПК* / А.А. Комаров, А.Н. Панин – М: Пищепромиздат, 2003. – 82 с.
3. Кузнецов, А.Ф. *Ветеринарная микология* / А.Ф. Кузнецов. – СПб.: Лань, 2001. – 416 с.
4. Сурай, П. Как микотоксины работают на молекулярном уровне / П. Сурай // *Птицеводство*. – 2004. – № 8. – С.25–26.
5. Тутельян, В.А. *Природные токсины и проблемы биобезопасности: Тез. док. 2-го съезда токсикологов России*. – М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ Минздрава России, 2003. – С. 32–35.

Профилактическое иммуностимулирующее средство для цыплят

Бравидефен

- состоит из природного оксифитостерола (брасиностероид);
- проявляет противовирусную активность *in vitro* в отношении вирусов ньюкаслской болезни птиц и инфекционного ларинготрахеита птиц;
- обладает иммуностимулирующей активностью, усиливая синтез цитокинов и антителообразование;
- разводят стерильным водным раствором натрия хлорида из расчета 2,7 г на 100 мл и вводят приготовленный раствор цыплятам суточного возраста с профилактической целью методом выпаивания из расчета 1 мл/100 г живой массы или интраназально в одну ноздрю с помощью глазной пипетки по 2 капли (0,1 см³) в течение 3–5 дней;
- мясо используется без ограничений;
- упаковывают по 5,4; 10,8 и 21,6 г;
- срок годности – 2 года при температуре от 0 до плюс 25 °С



Федотов Д.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Кучинский М.П., доктор ветеринарных наук, профессор²
Жуков А.И., кандидат ветеринарных наук, доцент¹

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

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

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИННО-БИОЭЛЕМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МОРФОЛОГИЮ МОЗГОВОГО ВЕЩЕСТВА НАДПОЧЕЧНИКОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме

В статье приводятся результаты морфологических исследований вещества надпочечника крупного рогатого скота. Установлены топографические особенности адреналиновых и норадреналиновых клеток, их сравнительная морфология и закономерности роста под влиянием препаратов на основе биоэлементов.

Summary

In the thesis describes a material on the morphology of the adrenal medulla of cattle. Installed topographic features adrenaline and noradrenaline cells, their comparative morphology and growth patterns under the influence of preparations based on bioelements.

Поступила в редакцию 08.10.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Отсутствие гармонии между морфофизиологическим состоянием животного и технологией производства в первую очередь отражается на нейроэндокринной системе. Выступая в роли интегрирующей и адаптационно-трофической системы, она обеспечивает целостность организма и его единство с окружающей средой.

В настоящее время особую актуальность приобрело детальное изучение морфологии, физиологии и биохимии эндокринного аппарата продуктивных животных, так как знание закономерностей развития надпочечников как органов, непосредственно обеспечивающих обмен веществ в организме, является биологической основой для разработки полноценного кормления и повышения продуктивных качеств разводимого скота. Для более полного понимания последствий влияния внешних факторов на организм крупного рогатого скота, адаптированного к различным условиям среды обитания, необходимо проведение широких морфологических исследований [1, 7, 8].

Надпочечники – одно из ведущих звеньев адаптивной системы организма. Вырабатываемые надпочечниками гормоны обеспечивают устойчивость организма к стрессорной ситуации, уменьшают проницаемость сосудистой стенки, индуцируют синтез оксидоредуктаз, обладают противовоспалительными свойствами, оказывают положительный эффект на гемодинамические показатели, влияют на энергетический обмен и активность дыхательных ферментов [4, 5, 6].

Цель работы – определить гистологическую структуру компонентов мозгового вещества надпочечников крупного рогатого скота под влиянием препаратов на основе биоэлементов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В условиях ОАО «Липовцы» Витебского района на комплексе по выращиванию и откорму бычков (д. Шапечино) был проведен научно-производственный опыт по изучению гистологической структуры компонентов мозгового вещества надпо-

чечников крупного рогатого скота под влиянием препаратов на основе биоэлементов «Антимиопатик 2» и «БАГ-Е-селен». Препарат «Антимиопатик 2» является комбинированным, так как содержит витамины Е и В₆, никотинамид, а также микроэлементы селен, марганец, медь, кобальт и цинк. Действующими веществами препарата «БАГ-Е-селен» являются витамин Е и селен. Основное назначение указанных лекарственных средств – профилактика производственных стрессов, болезней минеральной недостаточности и восполнение дефицита витаминов и минералов в организме животных.

По принципу условных аналогов создали 3 группы животных: одну контрольную и две (I и II) опытные. Контрольная группа из 12 бычков получала основной рацион, принятый в хозяйстве. Животные I (13 бычков) и II (15 бычков) опытных групп на фоне основного рациона подвергались обработке соответственно антимиопатиком 2 и БАГ-Е-селеном. Оба препарата применялись двукратно в 9- и 12-месячном возрасте, согласно инструкциям по их применению.

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

В условиях ОАО «Витебский мясокомбинат» при проведении убоя в 15-месячном возрасте бычков контрольной и опытных групп отбирали для морфологических исследований надпочечники. Предубойная живая масса в контрольной группе колеблется от 370 до 410 кг, в первой опытной группе – от 393 до 434 кг, во второй опытной группе – от 381 до 418 кг.

Надпочечники взвешивали, вырезали кусочек из центра железы и фиксировали в нейтральном 10 % растворе формалина. Гистологические исследования выполнялись на кафедре патологической анатомии и гистологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», в отделе токсикологии и незаразных болезней РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вы-

шелесского». Морфологический материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин. Изготавливали гистологические срезы толщиной 3–5 мкм на санном МС-2 микротоме и окрашивали гематоксилин-эозином.

Терминология описываемых гистологических структур мозгового вещества надпочечников приводилась в соответствии с Международной гистологической номенклатурой и морфологической классификацией.

Абсолютные измерения структурных компонентов надпочечников осуществляли при помощи светового микроскопа «Olympus» модели ВХ-41 с цифровой фотокамерой системы «Altra₂₀» и спектрометра HR 800 с использованием программы «Cell^A» и проводили фотографирование цветных изображений (разрешением 1400 на 900 пикселей). Дополнительно на цифровом микроскопе Celestron с LCD-экраном Penta-View модели #44348 проводили фотографирование с последующим анализом цветных изображений разрешением 1920 на 1080 пикселей.

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 *** $p < 0,001$.

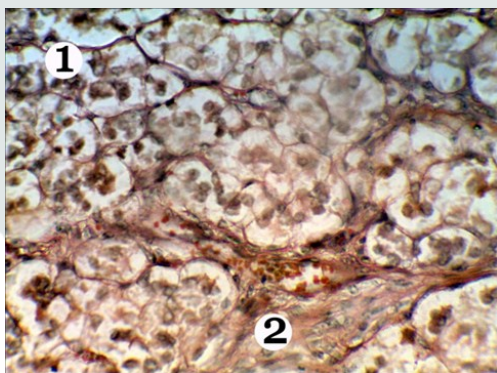
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В центре надпочечника располагаются хромаффиноциты медуллы. Форма мозгового вещества повторяет в общих чертах форму органа. Медулла надпочечников бычков имеет отличимую типичную видовую структуру от строения мозгового вещества других животных [3]. В поддерживающем каркасе медуллы, состоящем из рыхлой соединительной ткани, расположены многочисленные сосудистые полости – венозные синусы (рисунок 1, 2).

Медуллярные клетки крупных размеров светло окрашены, с крупными шаро-

видными базофильными ядрами. Ядра располагаются преимущественно эксцентрично, а ядрышко хорошо выражено (рисунок 3). Цитоплазма хромаффиноцитов содержит зернышки, гранулы. А-клетки располагаются под сетчатой зоной коркового вещества в виде длинных тяжей, идущих в различных направлениях, а скопление Н-клеток локализуется в центральной части мозгового вещества надпочечника среди А-клеток (рисунок 4, 5).

А-клетки призматической формы, с отчетливыми границами, шаровидными ядрами и слегка базофильной цитоплазмой.

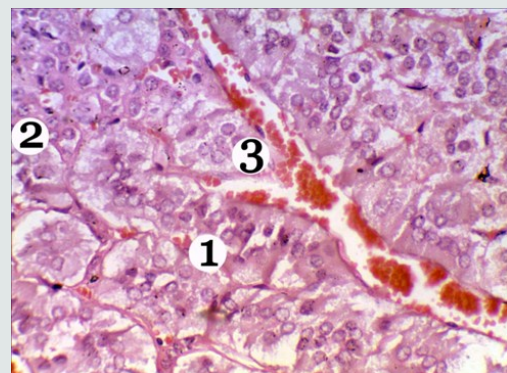


1 – А-клетки, 2 – соединительная ткань с сосудами

Рисунок 1. – Сформированный соединительнотканый каркас медуллы надпочечника 15-месячного бычка контрольной группы (окраска гематоксилин-эозином, ×400)

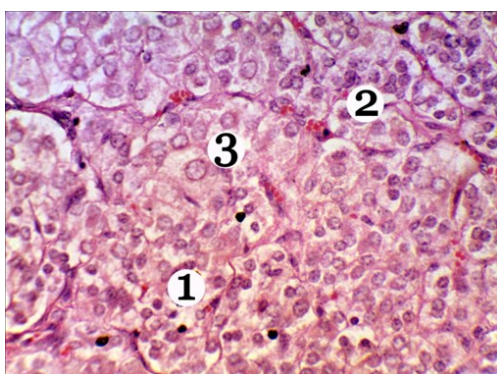
Н-клетки чаще полигональной формы, расположены группами или островками, окруженными тонкими соединительнотканными прослойками, образующие непрерывную сеть мозгового вещества надпочечника.

Соединительнотканые прослойки между клеточными скоплениями хорошо развиты в железах бычков опытных групп, а перимедуллярная прослойка отсутствует. У 15-месячных животных в медулле надпочечника расширяются венозные синусы, формируется соединительнотканый каркас без перимедуллярной прослойки.



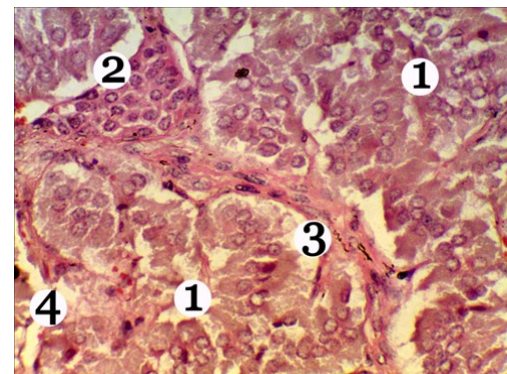
1 – А-клетки, 2 – Н-клетки, 3 – синусоиды

Рисунок 2. – Расширенные синусоиды и крупные А-клетки в медулле надпочечника бычка I опытной группы (окраска гематоксилин-эозином, ×400)



1 – А-клетки, 2 – прослойки соединительной ткани, 3 – гигантские клетки

Рисунок 3. – Гигантские клетки между хромаффиноцитами медуллы надпочечника 15-месячного бычка I опытной группы (окраска гематоксилин-эозином, ×400)



1 – А-клетки, 2 – Н-клетки, 3 – прослойки соединительной ткани, 4 – синусоиды

Рисунок 4. – Обособленные островки Н-клеток и крупные ядра А-клеток в медулле надпочечника бычка II опытной группы (окраска гематоксилин-эозином, ×400)



1 – А-клетки (периферическая зона),
2 – Н-клетки (центральная зона),
3 – островок А-клеток, 4 – синусоиды
Рисунок 5. – Обособленные островки
А-клеток в центральной зоне медуллы
среди Н-клеток 15-месячного бычка
II опытной группы (окраска
гематоксилин-эозином, $\times 400$)

У бычков I опытной группы между тяжами хромаффиноцитов медуллы располагаются широкие капиллярные синусоиды, настолько многочисленные, что все клетки находятся в контакте с эндотелием кровеносных капилляров. У бычков контрольной группы часто выявляются деструктивные изменения хромаффиноцитов и разрастание соединительнотканного кар-

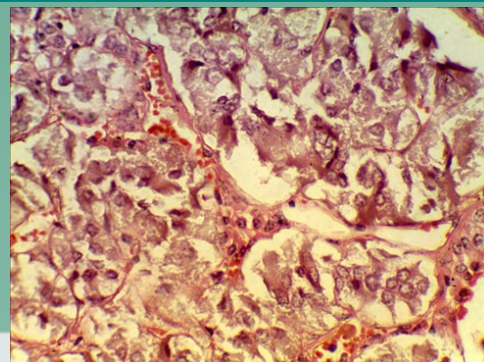


Рисунок 6. – Деструктивные изменения хромаффиноцитов и разрастание соединительнотканного каркаса медуллы надпочечника бычка контрольной группы (окраска гематоксилин-эозином, $\times 400$)

каса медуллы (рисунок 6). У бычков всех трех групп среди хромаффиноцитов мозгового вещества надпочечника локализуются нервные клетки, аксоны которых заканчиваются между эндокринными клетками.

Результаты морфометрических показателей медуллы надпочечников крупного рогатого скота представлены в таблице 1.

Таблица 1. – Морфометрические показатели медуллы надпочечников крупного рогатого скота, которому вводили препараты на основе витаминов и микроэлементов

Группы	Диаметр А-клетки, мкм	Объем ядра А-клетки, мкм ³	Диаметр Н-клетки, мкм	Объем ядра Н-клетки, мкм ³
I	10,62 \pm 0,71	103,23 \pm 2,02	8,46 \pm 0,40	80,74 \pm 1,25
II	18,56 \pm 0,38**	136,43 \pm 0,87*	9,70 \pm 0,33	100,09 \pm 0,64
III	15,66 \pm 0,51*	118,34 \pm 0,67*	10,59 \pm 0,39*	102,07 \pm 1,29*

Примечание – * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ – по отношению к контрольной группе

Из анализа данных таблицы 1 видно, что в контрольной и опытных группах А-клетки и объем их ядер превалируют над Н-клетками и их ядрами в мозговом веществе надпочечника крупного рогатого скота.

У бычков контрольной группы диаметр А-клеток медуллы надпочечника составляет 10,62 \pm 0,71 мкм, а Н-клеток –

8,46 \pm 0,40 мкм. У бычков I опытной группы диаметр А-клеток в 1,75 раза больше ($p < 0,01$), чем в контроле, и составляет 18,56 \pm 0,38 мкм. У бычков II опытной группы размер А-клеток равен 15,66 \pm 0,51 мкм, а объем ядра – 118,34 \pm 0,67 мкм³. Максимальным объемом ядра А-клеток установлен в медулле надпочечника бычков II опытной группы.

Темпы роста Н-клеток мозгового вещества надпочечника значительно отличаются от роста А-клеток. Объем ядер Н-клеток имеет такую же закономерность увеличения, как и сама клетка, однако максимальным показателем установлен у бычков II опытной группы и равен $102,07 \pm 1,29 \text{ мкм}^3$ ($p < 0,05$).

ВЫВОДЫ

Мозговое вещество надпочечника крупного рогатого скота имеет сформированное дефинитивное строение паренхимы и хорошо развитый соединительнотканый каркас. Под влиянием препарата «Антимиопатик 2» сосудистая сеть медуллы становится сформированной к 15-месячному возрасту. У бычков всех трех групп А-клетки

и объем их ядер превалируют над Н-клетками и их ядрами в мозговом веществе надпочечника. У бычков в контрольной группе в 15-месячном возрасте выявлены деструктивные изменения хромаффиноцитов и разрастание соединительнотканного каркаса медуллы. Под влиянием препаратов «Антимиопатик 2» и «БАГ-Е-селен» в медулле надпочечника бычков деструктивных изменений не выявлено, А- и Н-клетки, их ядра достигают максимального размера по сравнению с контролем. Все эти данные свидетельствуют о цитоплазматическом росте и увеличении активности хромаффиноцитов в медулле надпочечников под влиянием ветеринарных препаратов на основе витаминов и биоэлементов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кучинский, М.П. Биоэлементы – фактор здоровья и продуктивности животных: монография / М.П. Кучинский. – Минск: Бизнесофсет, 2007. – 372 с.
2. Федотов, Д.Н. Макроморфологические и топографические особенности надпочечников у крупного рогатого скота в постнатальном онтогенезе / Д.Н. Федотов // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: сборник научных трудов; гл. ред. А.П. Курдеко. – Горки: БГСХА, 2011. – Вып. 14, ч. 2. – С. 349–355.
3. Федотов, Д.Н. Цитоморфометрия надпочечников животных как функциональная парадигма / Д.Н. Федотов // Цитоморфометрия в медицине и биологии: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы IV Всероссийской научно-практической конференции, г. Москва, 19–20 мая 2011 г. – М., 2011. – С. 99–101.
4. Федотов, Д.Н. Становление компонентов надпочечников у человека и животных (гистофизиологические фундаментальные и экспериментальные аспекты): монография / Д.Н. Федотов, В.А. Косинец. – Витебск: ВГМУ, 2012. – 130 с.
5. Федотов, Д.Н. Мясная продуктивность и адаптивные преобразования надпочечников у бычков при введении в рацион кипрея узколистного / Д.Н. Федотов, М.П. Кучинский // Зоотехнічна наука: історія, проблеми, перспективи: матеріали III Міжнародної науково-практичної конференції, 22–24 травня 2013 р., Подільск; Подільський державний аграрно-технічний університет. – Кам'янець-Подільський: видавець ПП Зволейко Д.Г., 2013. – С. 122–123.
6. Fiadotau, D.N. The histomorphology of adrenal glands of the European roe deer in the mixed wood-lands of northern Belarus / D.N. Fiadotau // Development of scientific thought in the 21st century – problems and perspectives: 2nd International scientific-practical conference, Latvia, Riga, April 10, 2013; SCIENCE SUPPORT CENTER SIA. – Riga, 2013. – P. 129–130.
7. Kaisin, L. Selenium supplement use in young rabbits feeding / L. Kaisin // Stiinta Agricola. – 2007. – № 1. – P. 50–53.
8. Characterization of mammalian selenoproteomes / G.V. Kryukov [et al.] // Science. – 2003. – V. 300. – P. 1439–1443.
9. Junqueira, L.C. Basic histology: text & atlas (eleventh edition) / L.C. Junqueira, J. Carneiro. – New York: McGraw-Hill, 2005. – 502 p.

Логвинов О.Л., главный ветеринарный врач, кандидат ветеринарных наук¹
Кныш Н.В., старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук²

¹ОАО «Агрокомбинат «Дзержинский»

²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселского»

ВЛИЯНИЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ «ПРОБИОН-ФОРТЕ» НА ОРГАНИЗМ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Резюме

В статье приведены данные по изучению продуктивных качеств цыплят-бройлеров при применении пробиотической кормовой добавки «Пробион-форте».

Summary

The article presents data on the study of the productive qualities of broiler chickens when using probiotic food additive «Probian-forte».

Поступила в редакцию 06.08.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Отрасль мясного промышленного птицеводства является самой интенсивной из отраслей животноводства, развивается наиболее динамично как за счет увеличения численности поголовья, так и за счет создания новых высокопродуктивных мясных кроссов и совершенствования технологий производства. Работа с современными мясными кроссами проводится по принципу сбалансированного подхода к генетическому улучшению таких важных показателей, как рост и развитие, конверсия кормов, сохранность поголовья, инкубационные характеристики яйца племенных кур для воспроизводства бройлеров. Достижение генетического потенциала кросса зависит от соблюдения технологии, обеспечивающей необходимые условия выращивания, программы кормления, гарантирующие оптимальную питательность, а также от структуры используемых рационов, себестоимости используемых в рационе ингредиентов, их качественных характеристик, питательной ценности и усвояемости [2, 3].

Для стимуляции роста молодняка, повышения сохранности поголовья и продуктивных качеств взрослой птицы более по-

лувека использовали кормовые антибиотики главным образом для улучшения пищеварения птицы. В настоящее время генетическая устойчивость патогенных микроорганизмов привела к постепенному их исключению из кормовой базы многих стран. В конце июля 2003 г. Европарламент и Совет Европы одобрили правила, полностью запрещающие использование кормовых антибиотиков в рационах животных и птицы, а также лекарственных препаратов, изготовленных на их основе. Полный запрет на применение кормовых антибиотиков в птицеводстве действует также в США. В других странах применение кормовых антибиотиков регламентировано и носит ограничительный характер [1, 6].

В связи с этим возникла необходимость разработки новой технологии промышленного выращивания бройлеров. Одним из перспективных направлений для получения качественной и экологически безопасной продукции является использование пробиотиков [1, 2].

Новая технология должна обеспечивать выращивание здоровых цыплят, снизить смертность, повысить среднесуточный привес, улучшить конверсию корма, сни-

зитель количество дней откорма. Помимо этого новая технология должна исключить применение кормовых антибиотиков и снизить применение антибиотиков с профилактической целью без потери продуктивности птицы. Негативными факторами применения антибиотиков являются возникновение резистентности у патогенных микроорганизмов, дисбактериоз, снижение иммунного статуса птицы.

В поисках новых стратегий для повышения эффективности производства пробиотических кормовых добавок и физиологически обоснованных схем их применения в птицеводстве предлагаются различные сочетания пробиотических культур с ферментами, иммуномодуляторами, витаминами и другими биологически активными добавками. Особого внимания заслуживают сконструированные пробиотики, обладающие комплексным действием, совмещающие пробиотическую и ферментативную активности [5, 6].

Однако с учетом данных по технологии получения кормовых добавок на основе живых культур микроорганизмов необходимо учитывать, что эффективность действия кормовых добавок, особенно содержащих живые культуры, во многом зависит от технологии их производства, что подтверждается многочисленными исследованиями. Это связано с тем, что в процессе культивирования микроорганизмов, в том числе и продуцентов кормовых добавок, на них оказывает влияние множество факторов (технологических, температурных, временных), которые обеспечивают в дальнейшем их различную функциональную эффективность при попадании в организм животных и птицы. Поэтому качество кормовых добавок зависит от технологических подходов при их производстве [9].

Для эффективного использования пробиотиков в промышленном птицеводстве необходимы комплексные исследования, направленные на изучение их влияния на физиологические процессы в организме, конверсию корма, продуктивность, мясное качество тушек, неспецифическую рези-

стентность и микробиоценоз кишечника, а также на качество мясной продукции [4, 7].

На сегодняшний день пробиотики выпускаются в сухом и жидком виде. И та, и другая формы практически одинаково эффективны, обладают высокой технологичностью и удобны в применении. Сухая форма хорошо вписывается в любую действующую на предприятии систему кормопроизводства и кормообеспечения. Их можно включать в комбикорма, концентраты, премиксы, престартеры, заменители молока, смешивать с любыми другими сухими и жидкими кормами и водой. Жидкая форма, как правило, применяется ветврачами через медикаторы, а также для аэрозольного опрыскивания поголовья и обработки помещений. Достоверно установлено, что данные пробиотики безопасны для организма животного и человека даже при многократно превышающих дозировках. Правильное применение пробиотиков в птицеводстве и животноводстве дает высокий экономический эффект [8, 9].

Однако у каждого препарата есть свои положительные и отрицательные стороны, и нужно, опираясь на технологию и задачи производства, подобрать оптимальную схему применения. Поиск новых биологически активных веществ, способных оказывать многофакторное влияние на организм птицы, является актуальной задачей современного бройлерного птицеводства. Это и стало основой выбора темы исследований.

В связи с вышеизложенным, целью наших исследований являлось изучение продуктивных качеств цыплят-бройлеров при применении кормовой добавки с пробиотическими культурами «Пробион-форте».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Кормовая добавка «Пробион-форте» производства Woogene B&G Co, LTD, представляет собой сыпучий порошок, не сбивающийся в комки, от белого до светло-коричневого цвета, без твердых частиц и посторонних включений, со специфичес-

ким запахом молочной сыворотки. Гигроскопичен, хорошо растворяется в воде. В 1 г кормовой добавки содержится: *Bacillus coagulance* не менее 1×10^8 КОЕ, *Bacillus subtilis* не менее 1×10^8 КОЕ, *Clostridium butyricum* не менее 1×10^7 КОЕ, *Rhodopseudomonas capsulate q.s.*, цеолит 50 мг, диатомит до 1000 мг. Кормовую добавку «Пробион-форте» применяют для нормализации микрофлоры кишечника у птицы, улучшения процесса пищеварения, повышения неспецифической резистентности организма, увеличения сохранности и продуктивности поголовья, снижения затрат корма на единицу продукции, улучшения качества мяса птицы. Кормовая добавка «Пробион-форте» предназначена для получения экологически чистых, санитарно безопасных, биологически полноценных продуктов питания. Данная кормовая добавка сокращает количество вредных газов и уменьшает неприятный запах от выделений и экскрементов в помещениях выращивания птицы, улучшает качество помета, что благоприятно сказывается на состоянии окружающей среды.

Изучение продуктивных качеств цыплят-бройлеров при использовании в технологии их кормления кормовой добавки «Пробион-форте» проводили на цыплятах-бройлерах кросса «Росс-308» на базе ОАО «Агрокомбинат «Дзержинский». Контрольной группой служили птичники №№ 1–6 отделения «Багрицевщина». Опытной группой служили птичники №№ 7–12 отделения «Коски». Всего в опыте было задействовано 842 065 цыплят-бройлеров, из них 420 290 – в контрольной группе и 421 775 – в опытной группе.

Технологические параметры выращивания и ветеринарно-санитарные обработки цыплят-бройлеров во всех подопытных группах были одинаковыми и соответствовали рекомендациям по работе с кроссом «Росс-308».

Кормление цыплят-бройлеров осуществлялось полнорационными комбикормами. При этом в контрольной группе применялся полипептидный антибиотик «Вирджиниамицин», который используется в

птицеводстве для борьбы со стрессом птиц, обусловленным их скученностью и высокой температурой окружающей среды, а также в качестве стимулятора роста. В опытной группе антибиотик «Вирджиниамицин» был заменен кормовой добавкой «Пробион-форте», которую применяли согласно инструкции во все фазы кормления птицы с 1 по 42 день в дозе 500 г на тонну комбикорма.

Во время проведения научно-хозяйственного опыта учитывали следующие показатели: живую массу цыплят-бройлеров (средняя живая масса суточного цыпленка, средняя живая масса одного бройлера, среднесуточный прирост живой массы), сохранность поголовья и причины падежа, потребление корма (конверсия корма) и индекс продуктивности. Результаты зоотехнических показателей цыплят-бройлеров представлены в таблице 1.

Нами были проведены исследования по изучению некоторых показателей естественной резистентности цыплят-бройлеров. За критерий оценки естественной резистентности мясных цыплят были приняты гематологические показатели и бактерицидная активность сыворотки крови. Забор крови на гематологические исследования (от 60 птиц в каждой группе) приводили при убое цыплят-бройлеров в 42-дневном возрасте. Эритроциты и гемоглобин в цельной крови определяли с помощью эритрогемметра. Цельную кровь стабилизировали 1 %-ном раствором гепарина. Определение содержания общего белка в сыворотке крови проводили рефрактометрическим методом. Бактерицидную активность сыворотки крови определяли по методу О.В. Кузьминой в модификации В.М. Макарова и Т.А. Смирновой с использованием суточной бульонной культуры *E. coli*.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

За время проведения научно-хозяйственного опыта не было отмечено отрицательного влияния кормовой добавки «Пробион-форте» на клинический статус цыплят-бройлеров опытной группы.

Таблица 1. – Зоотехнические показатели цыплят-бройлеров

Показатель	Группа	
	Контрольная. Птичники №1, 2, 3, 4, 5, 6, отделение «Багрицевщина»	Опытная. Птичники 7, 8, 9, 10, 11, 12, отделение «Коски»
Посажено птицы, гол.	420 290	421 775
Срок откорма, дн.	40	40
Средняя живая масса суточного цыпленка, г	40±2,1	40±1,8
Средняя живая масса одного бройлера, г	2625±16,5	2635±14,3
Среднесуточный прирост живой массы, г	62,9±4,1	63,6±3,6
Конверсия корма	1,61	1,6
Сохранность бройлеров, %	95,1±0,3	95,2±0,1
Индекс продуктивности, ед.	380	381,4

Результаты исследований показали, что при применении пробиотической кормовой добавки «Пробион-форте» живая масса птицы в опытной группе незначительно увеличилась по сравнению с контрольной (на 10 г). Среднесуточный прирост живой массы в опытной группе был выше, чем в контрольной на 0,7 г. На протяжении всего опытного периода сохранность цыплят была высокой и составила в контрольной и опытной группах 95,1 и 95,2 соответственно. Затраты корма на единицу продукции были на 0,1 ед. выше в опыт-

ной группе. Эффективность производства мяса бройлеров характеризует показатель индекса продуктивности, который в опытной группе составил 381,4 ед., что на 1,4 ед. выше, чем в контрольной.

Результаты исследований гематологических показателей, общего белка и бактерицидной активности сыворотки крови представлены в таблице 2. Анализируя полученные данные, нужно отметить, что морфологические показатели крови цыплят-бройлеров опытной группы были выше, чем в контроле.

Таблица 1. – Показатели крови цыплят-бройлеров

Показатель	Группа	
	контрольная	опытная
Эритроциты, ×10 ¹² /л	2,55±0,13	2,97±0,08*
Гемоглобин, г/л	98,0±1,32	104,1±1,29**
Общий белок, г/л	42,2±1,44	47,7±1,36*
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	47,7±2,38	54,5±2,11*

Примечание – *P<0,05; **P<0,01

Как видно из таблицы 2, разница между птицей опытной и контрольной групп по бактерицидной активности сыворотки крови, общему белку и гематологическим показателям была статистически достоверна ($P < 0,05$ и $P < 0,01$), что свидетельствует о том, что цыплята-бройлеры опытной группы, получавшие кормовую добавку с пробиотическими культурами «Пробион-форте», отличаются более высокой естественной резистентностью.

В ходе выращивания и убоя установлено, что у птицы контрольной группы обнаруживались болезни незаразной этиологии: энтериты, гепатиты, нефриты, а в опытной партии они регистрировались в меньшей степени.

Таким образом, можно отметить по-

ложительное влияние кормовой добавки «Пробион-форте» на физиологические показатели и жизнеспособность цыплят-бройлеров.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение кормовой добавки с пробиотическими культурами «Пробион-форте» в дозе 500 г на тонну комбикорма оказывает положительное влияние на продуктивность цыплят-бройлеров и способствует сокращению затрат кормов на 1 кг мяса птицы.

Кормовую добавку «Пробион-форте» можно рекомендовать для применения в технологии промышленного выращивания цыплят-бройлеров мясных кроссов для замещения кормовых антибиотиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аляжкин, Ю. Пробиотики вместо антибиотиков – это реально / Ю. Аляжкин // *Птицеводство*. – 2005. – № 2. – С. 17–18.
2. Гуцин, В.В. Современные проблемы птицеперерабатывающей промышленности и пути их решения / В.В. Гуцин // *Птица и птицепродукты*. – 2006. – № 2. – С. 7–10.
3. Коцаев, А.Г. Здоровье животных – основной фактор эффективного животноводства / А.Г. Коцаев, В.В. Усенко, А.В. Лихоман // *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. – Краснодар: КубГАУ, 2014. – № 99. – С. 201–210.
4. Коцаев, А.Г. Особенности обмена веществ птицы при использовании в рационе пробиотической кормовой добавки / А.Г. Коцаев, С.А. Калюжный, Е.И. Мигина, Д.В. Гавриленко, О.В. Коцаева // *Ветеринария Кубани*. – 2013. – № 4. – С. 17–20.
5. Малик, Н.И. Пробиотики: теоретические и практические аспекты / Н.И. Малик // *Птицефабрика*. – 2006. – № 1. – С. 20–26.
6. Салимов, Д.Д. Эффективность применения пробиотиков при содержании мясных кур / Д.Д. Салимов // *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. – 2013. – С. 145–148.
7. Топурия, Л.Ю. Влияние пробиотикаолин на качественные показатели мяса цыплят-бройлеров / Л.Ю. Топурия, Г.М. Топурия, Е.В. Григорьева // *Ветеринария Кубани*. – 2012. – № 11. – С. 12–13.
8. Ушакова, Н.А. Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения / Н.А. Ушакова, Р.В. Некрасов, В.Г. Правдин, З.Л. Кравцова, О.И. Бобровская, Д.С. Павлов // *Фундаментальные исследования*. – 2012. – № 1. – С. 184–192.
9. Фисенко, Г.В. Пробиотики в комбикормах для кур-несушек и цыплят-бройлеров / Г.В. Фисенко, О.В. Коцаева, Ю.А. Лысенко // *Молодой ученый*. – 2015. – № 8. – С. 404–407.

Горлова О.С., ученый секретарь

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

ФАРМАКОДИНАМИКА ВАХТЫ ТРЕХЛИСТНОЙ В ОРГАНИЗМЕ ПОРОСЯТ

Резюме

В статье приведены результаты исследования морфологического и биохимического состава крови поросят при применении настоя, отвара и комплексных препаратов «Вахтоцид» и «Мениант» из листьев вахты трехлистной.

Summary

The article presents the results of the study of the morphological and biochemical composition of the blood of piglets when using infusion, decoction and complex preparations «Vakhtotsid» and «Meniant» from the leaves of the triple-leaf watch.

Поступила в редакцию 24.09.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Благодаря интенсивному развитию химических и биологических наук арсенал лекарственных средств медицинского и ветеринарного назначения постоянно увеличивается. По последним сведениям в настоящее время только в ветеринарной медицине применяется свыше 2 230 препаратов прямого назначения [1]. Богатым их источником являются лекарственные растения [4]. Поиск новых лечебных и профилактических лекарств будет вестись постоянно, так как у возбудителей болезней инфекционной и паразитарной этиологии быстро возникает адаптация к применяемым средствам [8].

Вахта трехлистная относится к семейству вахтовых – *Menyanthaceae* L. [10]. Это многолетнее травянистое растение с длинным ползучим членистым корневищем, листья на длинных черешках длиной до 17–30 см. Цветки собраны в густую верхушечную кисть. Плоды округло-яйцевидные, заостренные коробочки, семена многочисленные, слегка сжатые, буроватого цвета, созревают в июле–августе [11].

Лекарственным сырьём являются листья, которые собирают во время и после цветения растения. Сушат на чердаках, без

доступа прямых солнечных лучей. Высушенное сырьё хранят в хлопчатобумажных мешках, картонных коробках в течение 2 лет. В листьях вахты трёхлистной содержатся горькие гликозиды, алкалоид генцианин, флавоновые гликозиды (рутин и гиперозид), витамин С, холин, линолевые и пальмитиновые жирные кислоты, дубильные вещества, йод и селен [11].

Изготовление препаратов «Вахтоцид» и «Мениант» осуществляли путём измельчения сухих листьев вахты трёхлистной до порошкообразной формы с добавлением остальных ингредиентов и тщательным их перемешиванием. Препарат «Вахтоцид» содержит измельченные листья вахты трехлистной, лактулозу и трепел. Препарат «Мениант» содержит измельченные листья вахты трехлистной, лактулозу и янтарную кислоту.

Действие лекарственных препаратов у различных видов сельскохозяйственных животных может проявляться по-разному в зависимости от их физиологических особенностей. В связи с этим весьма важным является изучение фармакодинамики тех или иных лекарств на разные виды живых организмов и их физиологические функции [5, 6, 7].

Важнейшим показателем влияния тех или иных факторов на живой организм является клинический анализ крови, представляющий комплекс лабораторных показателей, ведущими из которых являются количество форменных элементов крови и гемоглобина в изучаемом живом объекте [2].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

С целью изучения влияния вахты трехлистной на организм свиней нами были проведены опыты на 30 поросятах 37-дневного возраста в клинике кафедры паразитологии УО ВГАВМ, завезенных из ЗАО «Ольговское» Витебского района.

После 3-дневного адаптационного периода поросята были разделены на 5 групп по 6 голов в каждой. Затем животным первой группы назначен настой из листьев вахты трехлистной в дозе 3 мл/кг массы внутрь с кормом 2 раза в день; второй группе – отвар из листьев вахты трехлистной в дозе 2 мл/кг массы внутрь 2 раза в день с кормом; третьей группе – препарат «Вахтоцид» в дозе 200 мг внутрь с кормом; четвертой группе – препарат «Мениант» внутрь в дозе 180 мг/кг массы 2 раза в день с кормом. Поросятам пятой группы препарат не назначался.

В течение 30 дней за подопытными животными вели клинические наблюдения и производили исследования морфологического и биохимического состава крови. Измеряли температуру тела.

Анализ клинического состояния поросят показал, что в течение всего опыта поросята были активными, реагировали на внешние раздражители, полностью поедали корм, фекальные массы были сформированы. Воду пили в пределах нормы. Температура тела не превышала физиологические показатели.

Гематологические исследования (содержание эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина) выполнялись с использованием автоматического гематологического анализатора Medonic-Sa (Швейцария). Лейкограмму выводили в мазках крови, окрашен-

ных по Романовскому-Гимзе.

Биохимические исследования сыворотки крови выполнялись на автоматическом биохимическом анализаторе B5-300 с использованием реактивов фирмы «Randox» (Англия) и «Cormay» (Польша). В процессе исследований в сыворотке крови определяли содержание общего белка и белковых фракций, активности ферментов (щелочной фосфатазы, аланин-и-аспартатаминотрансферазы, глюкозы, общего холестерина, мочевины, общего билирубина, микроэлементов (кальция, органического фосфора, сывороточного железа и магния)).

При оценке неспецифического иммунитета (естественной резистентности и иммунной реактивности) изучали фагоцитарную активность нейтрофилов по методике, предложенной Карпутём И.М. [12]. Лизоцимную активность сыворотки крови определяли по Дорофейчуку В.Г. [13]. В качестве тест-объекта использовали культуру *M. ly-sodeikticus*. Бактерицидную активность сыворотки крови определяли по методу Мюнселля и Тредденса в модификации Смирновой О.В. и Кузьминой Т.Н. [13]. Полученный цифровой материал подвергли статистической обработке с использованием программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ динамики морфологического состава крови поросят опытных и контрольных групп показал (таблица 1), что на протяжении всего опыта количество эритроцитов изменялось незначительно. Однако в первые дни опыта после применения препаратов их содержание ($5,14 \pm 0,16 - 5,44 \pm 0,09 \times 10^{12}/л$) было несколько выше, чем в контрольной группе ($4,93 \pm 0,04 \times 10^{12}/л$, $P < 0,05$). Такая же тенденция сохранялась и на 10–15 дни исследования.

При анализе количественного состава тромбоцитов можно отметить, что в течение периода наблюдений их содержания увеличивалось. Так, в первой группе количество их возросло с $239,4 \pm 4,75$ до $252,9 \pm 6,45 \times 10^9/л$ ($P < 0,001$), во второй – с $253,7 \pm 2,7$ до $275,2 \pm 11,4 \times 10^9/л$ ($P < 0,01$), в третьей группе – с $251,9 \pm 8,05$ до $286,4 \pm 2,12 \times 10^9/л$

($P < 0,001$), в четвертой – с $232,5 \pm 3,9$ до $283,6 \pm 2,65 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$). В этот же период в контрольной группе количество тромбоцитов было выше на 12,2 % ($P < 0,05$). По

нашему мнению, увеличение количества тромбоцитов носит возрастной характер, так как оно не выходило за пределы физиологической нормы [3].

Таблица 1. – Влияние препаратов вахты трехлистной на некоторые показатели крови поросят ($M \pm m$)

Группы животных	До применения препарата	Дни исследований после применения препарата				
		3	5	10	15	30
Динамика эритроцитов, $10^{12}/\text{л}$						
1	$4,90 \pm 0,04$	$4,98 \pm 0,05$	$5,25 \pm 0,05$	$5,25 \pm 0,05$	$5,20 \pm 0,08$	$5,40 \pm 0,22$
2	$4,71 \pm 0,02$	$5,18 \pm 0,19$	$5,14 \pm 0,16^*$	$5,35 \pm 0,07$	$5,36 \pm 0,06$	$5,15 \pm 0,03$
3	$4,76 \pm 0,07$	$5,29 \pm 0,13$	$5,33 \pm 0,09$	$5,38 \pm 0,01$	$5,41 \pm 0,04$	$5,43 \pm 0,01$
4	$4,59 \pm 0,01$	$5,42 \pm 0,14$	$5,44 \pm 0,09$	$5,39 \pm 0,23$	$5,46 \pm 0,03$	$5,33 \pm 0,14$
5	$4,82 \pm 0,01$	$4,96 \pm 0,03$	$4,93 \pm 0,04$	$5,02 \pm 0,11$	$4,94 \pm 0,07$	$5,39 \pm 0,25$
Динамика тромбоцитов, $10^9/\text{л}$						
1	$239,4 \pm 4,75$	$268,7 \pm 8,75$	$282,6 \pm 1,60$	$247,5 \pm 11,3$	$256,7 \pm 2,65$	$252,9 \pm 6,45^*$
2	$253,7 \pm 2,70$	$264,9 \pm 3,55$	$268,9 \pm 0,55$	$264,1 \pm 0,20$	$283,2 \pm 1,25$	$275,2 \pm 11,4^{**}$
3	$251,9 \pm 8,05$	$260,6 \pm 6,75$	$287,3 \pm 2,40$	$286,6 \pm 1,05$	$284,2 \pm 3,20$	$286,4 \pm 2,12^*$
4	$232,5 \pm 3,90$	$265,4 \pm 2,05$	$290,5 \pm 1,45$	$282,8 \pm 1,50$	$288,7 \pm 2,70$	$283,6 \pm 2,65^{***}$
5	$238,6 \pm 1,20$	$268,3 \pm 9,70$	$278,9 \pm 9,55$	$298,3 \pm 0,85$	$282,8 \pm 1,85$	$292,3 \pm 5,55$
Динамика лейкоцитов, $10^9/\text{л}$						
1	$12,05 \pm 0,85$	$12,35 \pm 0,05$	$11,95 \pm 0,05$	$12,25 \pm 0,25$	$12,25 \pm 0,35$	$12,0 \pm 0,10^{**}$
2	$11,35 \pm 0,35$	$12,90 \pm 0,10$	$12,50 \pm 0,50$	$12,10 \pm 0,40$	$11,30 \pm 0,70$	$13,10 \pm 0,10$
3	$12,10 \pm 0,10$	$13,20 \pm 0,10$	$12,70 \pm 0,70$	$11,55 \pm 0,35$	$13,0 \pm 0,60$	$13,25 \pm 0,35^{**}$
4	$11,05 \pm 0,25$	$12,95 \pm 0,45$	$13,25 \pm 0,05$	$14,85 \pm 0,05$	$13,65 \pm 0,05$	$12,60 \pm 0,50$
5	$12,0 \pm 0,08$	$10,10 \pm 0,10$	$11,20 \pm 0,60$	$11,80 \pm 0,20$	$11,70 \pm 0,30$	$12,50 \pm 0,10$
Динамика гемоглобина, г/л						
1	$97,9 \pm 1,95$	$104,3 \pm 0,05$	$105,8 \pm 0,60$	$111,3 \pm 0,60$	$110,4 \pm 0,55$	$109,1 \pm 0,15$
2	$96,4 \pm 1,0$	$110,6 \pm 1,30$	$112,8 \pm 2,05$	$120,6 \pm 9,20$	$111,2 \pm 0,9$	$112,2 \pm 0,25$
3	$97,9 \pm 0,70$	$110,0 \pm 0,70$	$114,9 \pm 0,35$	$115,2 \pm 1,60$	$112,9 \pm 1,0$	$111,6 \pm 0,80$
4	$97,2 \pm 0,40$	$110,9 \pm 0,05$	$116,8 \pm 2,60$	$110,9 \pm 2,55$	$112,7 \pm 0,7$	$111,7 \pm 1,10$
5	$91,8 \pm 0,50$	$94,4 \pm 3,95$	$97,8 \pm 0,40$	$93,4 \pm 1,05$	$98,1 \pm 4,7$	$94,1 \pm 0,45^*$

Примечание – уровень статистически значимого различия $^*(P < 0,001)$, $^{**}(P < 0,01)$, $^{***}(P < 0,05)$ приводится в сравнении с контрольной группой

Анализ содержания лейкоцитов в крови поросят опытных и контрольной групп показывает, что изменения количественного состава этих форменных элементов были незначительными. Так, в начале опыта их количество во всех группах было в пределах $11,05 \pm 0,25 - 12,10 \pm 0,85 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,01$), в конце опыта – $12,0 \pm 0,10 - 13,25 \pm 0,35 \times 10^9/\text{л}$ ($P < 0,01$).

При оценке содержания гемоглобина видно, что в течение периода наблюдений отмечается определённый рост количества этого показателя. Так, в первой группе в

конце опыта он был выше на 11,4 % в сравнении с исходными данными, во второй – на 16,3 %, в третьей – на 14,8 %, в четвертой на 14,9 %. В то же время в контрольной группе содержание гемоглобина увеличилось менее значительно (на 2,5 %, $P < 0,01$). Таким образом, можно отметить, что изучаемые препараты не оказывают отрицательного влияния на морфологический состав крови. Наблюдается тенденция к количественному росту содержания эритроцитов, тромбоцитов, гемоглобина, что свидетельствует о положительном влиянии

препаративных форм вахты трехлистной на гемопоэз в организме поросят.

Важнейшим показателем естественной резистентности организма животных является фагоцитарная активность лейкоцитов. Основную роль в процессе фагоцитоза играют микрофаги, особенно нейтрофилы, меньшее значение имеют базофилы и эозинофилы. Среди макрофагов большое значение имеют моноциты.

Анализ данных, изложенных в таблице 2, показывает, что в течение всего опыта фагоцитарная активность нейтрофилов была выше в опытных группах $15,75 \pm 1,45$ % – $18,10 \pm 0,10$ % – $19,72 \pm 1,1$ % $28,75 \pm 0,15$ %, $P < 0,01$ по сравнению с контрольной группой ($14,25 \pm 2,95$ % – $19,55 \pm 1,65$ %). Приведенные данные свидетельствуют о благоприятном влиянии вахты трехлистной на фагоцитарную активность нейтрофилов, особенно вахтоцида и менианта.

К числу факторов естественной резистентности относятся лизоцим, являющийся ферментом и содержащийся в больших количествах в слезной жидкости, слюне, сыворотке крови, секретах эндокринных

желез.

Как показывают данные таблицы 2, количество лизоцима в течение всего опыта постепенно повышалось в сравнении с его содержанием у поросят контрольной группы и в конце эксперимента составляло от $4,15 \pm 0,05$ % до $2,40 \pm 0,10$ % ($P < 0,001$). По нашему мнению, увеличение количества лизоцима связано, с одной стороны, с возрастными изменениями, а с другой – стимулирующим действием вахты трехлистной.

Аналогичные изменения отмечены и при изучении бактерицидной активности сыворотки крови, особенно в третьей и четвертой группах, где был значительный рост этого показателя. Так, в четвертой группе он увеличился с $18,76 \pm 0,55$ % до $36,35 \pm 1,45$ % ($P < 0,01$), в то время как в контрольной группе с $18,35 \pm 0,95$ % до $22,25 \pm 0,35$ % ($P < 0,05$).

Таким образом, изучение факторов естественной резистентности и иммунной реактивности показало отсутствие отрицательного влияния изучаемых препаратов на организм поросят.

Таблица 2. – Фагоцитарная активность нейтрофилов, лизоцимная и бактерицидная активность нейтрофилов (%)

Группы животных	До применения препарата	Дни исследований после применения препарата				
		3	5	10	15	30
Фагоцитарная активность нейтрофилов, %						
1	$16,42 \pm 1,20$	$19,71 \pm 0,40$	$22,64 \pm 0,80$	$22,10 \pm 0,40$	$22,40 \pm 1,20$	$19,72 \pm 1,10$
2	$17,61 \pm 0,60$	$17,12 \pm 1,10$	$22,92 \pm 3,60$	$20,55 \pm 0,75$	$24,15 \pm 0,35$	$22,0 \pm 3,20$
3	$18,10 \pm 0,10$	$21,30 \pm 2,10$	$25,94 \pm 3,30$	$26,75 \pm 1,95$	$25,11 \pm 0,7$	$25,45 \pm 2,75$
4	$15,75 \pm 1,45$	$24,72 \pm 4,90$	$26,05 \pm 0,25$	$26,05 \pm 1,15$	$26,25 \pm 1,95$	$28,75 \pm 0,15^{**}$
5	$14,25 \pm 2,95$	$19,40 \pm 1,20$	$21,10 \pm 0,30$	$19,35 \pm 1,95$	$19,55 \pm 1,65$	$18,75 \pm 0,45$
Лизоцимная активность сыворотки крови, %						
1	$2,75 \pm 0,15$	$3,90 \pm 0,10$	$3,95 \pm 0,25$	$4,15 \pm 0,05$	$3,65 \pm 0,05$	$3,95 \pm 0,05$
2	$2,90 \pm 0,10$	$3,85 \pm 0,05$	$4,05 \pm 0,05$	$4,45 \pm 0,45$	$3,85 \pm 0,15$	$4,15 \pm 0,05^*$
3	$2,75 \pm 0,15$	$4,10 \pm 0,10$	$4,10 \pm 0,10$	$4,35 \pm 0,05$	$4,10 \pm 0,10$	$3,85 \pm 0,05$
4	$2,45 \pm 0,05$	$4,25 \pm 0,05$	$4,25 \pm 0,05$	$4,10 \pm 0,10$	$4,40 \pm 0,30$	$3,75 \pm 0,05$
5	$2,40 \pm 0,10$	$2,40 \pm 0,40$	$2,60 \pm 0,20$	$2,55 \pm 0,15$	$2,60 \pm 0,10$	$2,40 \pm 0,10$
Бактерицидная активность сыворотки крови, %						
1	$20,0 \pm 0,20$	$22,91 \pm 1,60$	$27,85 \pm 0,45$	$27,95 \pm 0,55$	$26,35 \pm 1,05$	$25,95 \pm 1,45$
2	$18,60 \pm 0,70$	$22,24 \pm 0,40$	$22,72 \pm 0,10$	$28,75 \pm 0,38$	$28,0 \pm 2,80$	$28,32 \pm 1,90$
3	$18,75 \pm 0,55$	$28,83 \pm 0,40$	$30,31 \pm 0,10$	$29,53 \pm 0,90$	$29,74 \pm 0,10$	$27,60 \pm 1,20$
4	$18,76 \pm 0,55$	$30,45 \pm 0,35$	$30,45 \pm 0,35$	$32,94 \pm 0,70$	$32,95 \pm 1,55$	$36,35 \pm 1,45^{**}$
5	$18,35 \pm 0,95$	$20,61 \pm 0,80$	$20,63 \pm 0,80$	$18,76 \pm 0,10$	$20,53 \pm 0,10$	$22,25 \pm 0,35^{***}$

Примечание – уровень статистически значимого различия $^*(P < 0,001)$, $^{**}(P < 0,01)$, $^{***}(P < 0,05)$ приводится в сравнении с контрольной группой

Как показали наши исследования (таблица 3), в течение всего периода опытов активность щелочной фосфатазы в опытных группах постепенно понижалась с $148,6 \pm 7,8$ IU/л до $129,0 \pm 11,0$ IU/л ($P < 0,01$). В то же время в контрольной группе она колебалась в пределах $147,6 \pm 3,25 - 153,6 \pm 0,4$ IU/л. В организме животных значительную роль играют аминотрансферазы, особенно в процессах переаминирования, стоящие на границе белкового и углеводного обменов. Повышение активности аминотрансфераз отмечено при поражении печени, при многих токсикозах, вызванных паразитами [9].

Активность аспаргатаминотрансфера-

зы в течение опыта постепенно понижалась с $29,30 \pm 1,9$ IU/л – $33,61 \pm 2,2$ IU/л до $26,80 \pm 2,5$ IU/л – $29,70 \pm 0,3$ IU/л ($P < 0,01$) в конце исследований. У поросят контрольной группы активность этого фермента составляла $30,50 \pm 0,3 - 29,80 \pm 2,61$ IU/л ($P < 0,01$). Аналогичные изменения отмечены и при изучении аланинаминотрансферазы. Так, перед назначением препаратов активность изучаемого фермента составила $41,84 \pm 1,6$ IU/л – $46,13 \pm 0,3$ IU/л, в конце опыта – $32,0 \pm 5,4$ IU/л – $37,25 \pm 0,85$ IU/л ($P < 0,01$). Таким образом, изучаемые препараты не оказывают влияния на ферментативные процессы и не обладают токсическими свойствами.

Таблица 3. – Активность некоторых ферментов сыворотки крови под влиянием препаратов из листьев вахты трехлистной ($M \pm m$)

Группы животных	До применения препарата	Дни исследований после применения препарата				
		3	5	10	15	30
Щелочная фосфатаза, IU/л						
1	$150,7 \pm 0,7$	$138,0 \pm 3,7$	$141,5 \pm 0,8$	$130,2 \pm 0,4$	$137,4 \pm 1,45$	$132,9 \pm 2,3$
2	$150,5 \pm 8,55$	$150,3 \pm 1,0$	$131,9 \pm 1,5$	$123,2 \pm 3,25$	$138,0 \pm 7,2$	$138,1 \pm 1,3$
3	$157,2 \pm 2,15$	$138,2 \pm 0,4$	$133,5 \pm 3,3$	$125,5 \pm 6,9$	$139,3 \pm 1,35$	$129,0 \pm 11,0^{**}$
4	$148,6 \pm 7,8$	$144,1 \pm 0,9$	$139, \pm 2,4$	$129,1 \pm 6,3$	$123,0 \pm 3,5$	$135,1 \pm 2,3$
5	$147,6 \pm 3,25$	$152,1 \pm 1,2$	$151,1 \pm 4,7$	$155,9 \pm 3,55$	$152,9 \pm 0,15$	$153,6 \pm 0,4$
Аспаргатаминотрансфераза, IU/л						
1	$33,61 \pm 2,2$	$29,90 \pm 0,3$	$31,85 \pm 0,95$	$26,80 \pm 1,0$	$28,0 \pm 0,8$	$29,70 \pm 0,3^{**}$
2	$33,0 \pm 46,0$	$29,30 \pm 0,5$	$28,75 \pm 0,95$	$27,20 \pm 1,2$	$26,70 \pm 0,3$	$26,80 \pm 2,5$
3	$32,45 \pm 2,25$	$27,85 \pm 3,05$	$25,05 \pm 0,75$	$24,95 \pm 1,45$	$28,25 \pm 0,35$	$26,20 \pm 0,2$
4	$29,30 \pm 1,9$	$27,05 \pm 2,65$	$27,50 \pm 0,7$	$28,95 \pm 0,35$	$27,70 \pm 0,3$	$29,15 \pm 0,15$
5	$30,50 \pm 0,3$	$33,10 \pm 2,3$	$32,25 \pm 0,35$	$32,45 \pm 1,95$	$28,90 \pm 0,3$	$29,80 \pm 2,6^{**}$
Аланинаминотрансфераза, IU/л						
1	$46,13 \pm 0,3$	$36,85 \pm 0,55$	$38,60 \pm 1,2$	$37,75 \pm 1,55$	$40,15 \pm 0,75$	$34,71 \pm 3,8$
2	$41,84 \pm 1,6$	$42,75 \pm 4,45$	$38,0 \pm 0,8$	$37,50 \pm 1,9$	$38,30 \pm 0,9$	$32,0 \pm 5,4$
3	$42,66 \pm 2,1$	$34,0 \pm 0,4$	$32,94 \pm 2,7$	$38,82 \pm 1,4$	$34,72 \pm 1,1$	$37,25 \pm 0,85^{**}$
4	$43,35 \pm 0,55$	$32,30 \pm 0,2$	$32,25 \pm 0,35$	$34,45 \pm 0,05$	$36,30 \pm 0,5$	$36,25 \pm 1,45$
5	$42,25 \pm 2,05$	$43,05 \pm 0,85$	$42,11 \pm 1,8$	$43,50 \pm 3,2$	$42,35 \pm 1,45$	$43,0 \pm 0,4$

Примечание – уровень статистически значимого различия $^{*}(P < 0,001)$, $^{**}(P < 0,01)$, $^{***}(P < 0,05)$ приводится в сравнении с контрольной группой

Анализ данных таблицы 4 показывает, что при применении препаратов из вахты трехлистной количество общего белка увеличилось в первые 10–15 дней до $48,31 \pm 0,9$ г/л – $51,73 \pm 1,1$ г/л ($P < 0,01$), в то время как в контрольной группе в течение всего опыта изменений в содержании общего белка не произошло ($42,20 \pm 1,4 - 42,05 \pm 0,75$ г/л). Имело место некоторое увеличение альбуминов в третьей и четвертой группах соот-

ветственно: $19,81 \pm 0,4$ г/л до $26,65 \pm 2,15$ г/л и от $20,25 \pm 1,65$ г/л до $24,51 \pm 0,7$ г/л ($P < 0,01$). Весьма существенным было увеличение глобулинов, особенно гамма-глобулиновой фракции, в третьей и четвертой группах (с $20,8 \pm 0,6$ г/л – $22,75 \pm 0,35$ г/л – $29,65 \pm 0,45$ г/л – $30,65 \pm 0,25$ г/л, $P < 0,001$). У поросят контрольной группы содержание гамма-глобулинов было в пределах физиологической нормы ($20,0 \pm 0,6$ г/л – $23,9 \pm 1,5$ г/л).

Таблица 4. – Динамика белкового обмена веществ в сыворотке крови (M±m)

Группы животных	До применения препарата	Дни исследований после применения препарата				
		3	5	10	15	30
Динамика общего белка, г/л						
1	42,0±1,4	47,10±0,7	50,0±0,2	48,31±0,9	48,32±1,9	45,42±4,2
2	42,20±0,4	47,05±1,35	47,25±0,95	47,85±0,75	51,53±1,7	45,95±2,55
3	42,85±0,95	47,90±1,2	46,75±1,35	46,05±1,35	48,75±0,65	47,0±0,2
4	42,70±0,9	48,23±0,4	51,73±1,1**	49,12±1,0	49,93±0,3	48,31±0,9
5	42,20±1,4	41,44±0,8	39,60±0,2	41,81±0,5	41,34±2,9	42,05±0,75
Динамика альбуминов, г/л						
1	20,25±0,95	25,20±0,4	24,55±0,65	20,0±4,8	25,05±0,75	18,35±4,05
2	22,20±0,4	21,75±0,55	22,55±1,7	23,52±0,7	25,95±0,45	22,90±1,6
3	19,81±0,4	23,10±0,7	23,35±0,45	26,65±2,15	22,90±1,6	26,55±2,25
4	20,25±1,65	23,0±0,2	26,73±1,1	25,35±0,45	28,61±0,7	24,51±0,7**
5	21,05±0,15	18,82±0,5	21,62±0,8	20,85±0,05	20,31±1,1	21,25±0,05
Динамика альфа-глобулинов, г/л						
1	13,95±1,55	16,65±0,55	15,50±1,3	16,85±0,45	16,5±1,6	14,9±0,7
2	15,05±0,85	18,90±0,7	22,5±0,9	24,30±4,0	28,95±0,35	28,75±0,15
3	13,70±2,40	24,0±0,1	24,5±1,0	28,35±0,95	28,25±0,05	26,6±2,0
4	15,30±0,4	24,7±0,2	31,0±0,2	29,2±0,6	29,5±0,6	30,0±0,6
5	15,0±0,1	18,15±0,55	15,80±0,4	16,2±0,2	16,5±1,30	16,05±1,15
Динамика бета-глобулинов, г/л						
1	19,5±0,2	18,15±1,75	17,8±0,4	20,0±0,8	23,6±0,8	24,2±0,6
2	17,25±0,15	18,85±0,45	21,8±0,6	23,55±4,25	24,05±2,25	21,6±0,8
3	19,85±0,55	22,15±0,25	21,8±0,6	17,05±0,75	18,5±0,4	24,7±0,9
4	20,50±0,4	25,1±0,5	24,10±0,3	25,5±0,3	24,5±3,3	19,3±0,1
5	19,05±0,25	19,55±0,75	18,45±0,35	19,5±0,3	19,5±0,30	21,0±1,8
Динамика гамма-глобулинов, г/л						
1	21,05±1,25	25,85±0,95	26,0±0,4	26,6±0,1	23,05±1,25	25,1±2,3
2	20,8±0,4	23,8±0,1	24,3±1,1	27,1±0,3	25,3±0,5	25,65±0,85
3	20,8±0,6	24,0±0,2	25,25±0,15	27,05±2,25	26,0±1,2	29,65±0,45
4	22,75±0,35	26,1±0,5	25,35±0,05	26,15±1,85	26,15±1,85	30,65±0,25***
5	20,0±0,6	19,55±0,25	20,8±0,4	18,85±0,45	18,85±0,45	23,9±1,5

Примечание – уровень статистически значимого различия *(P<0,001), **(P<0,01), ***(P<0,05) приводится в сравнении с контрольной группой

Как показывают данные наших исследований (таблица 5), в содержании глюкозы на протяжении всего периода опыта существенных изменений не наблюдалось. Во

всех группах её количество колебалось в пределах 4,38±0,08 ммоль/л до 4,76±0,18 ммоль/л, что соответствует физиологической норме этого вида животных.

Таблица 5. – Влияние препаратов из вахты трехлистной на содержание глюкозы, ммоль/л (M±m)

Группы животных	До применения препарата	Дни исследований после применения препарата				
		3	5	10	15	30
Содержание глюкозы, ммоль/л						
1	4,76±0,25	4,85±0,1	4,87±0,06	4,90±0,03	4,88±0,08	4,76±0,18
2	4,38±0,08	4,79±0,08	4,71±0,11	4,69±0,01	4,78±0,04	4,72±0,03
3	4,58±0,08	4,79±0,12	4,88±0,08	4,74±0,05	4,61±0,09*	4,78±0,04
4	4,38±0,01	4,67±0,03	4,80±0,11	4,73±0,02	4,74±0,06	5,64±1,0*
5	4,57±0,01	4,62±0,01	4,58±0,12	4,54±0,06	4,60±0,09	4,57±0,02

Примечание – уровень статистически значимого различия *(P<0,001), **(P<0,01), ***(P<0,05) приводится в сравнении с контрольной группой

Данные таблицы 6 показывают, что содержание мочевины в сыворотке крови в период эксперимента существенно не изменилось и колебалось в пределах 6,95±0,06 ммоль/л в начале опыта и 6,66±0,07 ммоль/л в конце. Примерно такое же количество мочевины было и у поросят контрольной группы (7,09±0,01–6,81±0,12 ммоль/л).

В процессе эксперимента содержание триглицеридов существенно не менялось. Так, в контрольной группе на протяжении всего опыта их количество находилось в пределах 1,56±0,02 ммоль/л – 1,75±0,02 ммоль/л. Почти такое же содержание триглицеридов было и в опытных группах. Лишь некоторое

повышение на 5-ый день отмечено у поросят третьей группы (1,96±0,03 ммоль/л), однако оно статистически не достоверно (P<0,05).

В процессе применения препаратов из вахты трехлистной содержание билирубина существенно не менялось. Так, в опытных группах в начале опыта количество его составляло 4,29±0,13 – 4,34±0,02 мкмоль/л, в конце опыта – 4,33–4,63±0,04 мкмоль/л. У поросят контрольной группы – 4,34±0,06 – 4,37±0,01 мкмоль/л.

Следовательно, изучаемые препараты не оказывают существенного влияния на пигментный обмен в организме поросят.

Таблица 6. – Показатели азотистого, липидного и пигментного обмена веществ в сыворотке крови (M±m)

Группы животных	До применения препарата	Дни исследований после применения препарата				
		3	5	10	15	30
Содержание мочевины, ммоль/л						
1	6,95±0,06	6,39±0,09	5,86±0,10	6,58±0,17	6,61±0,09	6,66±0,07
2	6,88±0,04	6,47±0,04	6,04±0,04	6,77±0,14	6,49±0,02	6,61±0,01
3	6,89±0,11	6,29±0,29	6,01±0,14	6,32±0,08	6,55±0,03	6,59±0,01
4	6,80±0,01	6,67±0,23	6,18±0,06	6,13±0,02	6,49±0,01	6,53±0,07
5	7,09±0,01	6,96±0,03	7,0±0,12	7,06±0,06	6,66±0,07	6,81±0,12
Содержание триглицеридов, ммоль/л						
1	1,73±0,10	1,81±0,08	1,88±0,01	1,75±0,02	1,74±0,05	1,60±0,04
2	1,78±0,02	1,65±0,13	1,86±0,03	1,79±0,03	1,75±0,03	1,72±0,03
3	1,81±0,02	1,82±0,02	1,96±0,03***	1,76±0,04	1,56±0,02	1,74±0,02
4	1,74±0,03	1,78±0,12	1,76±0,08	1,79±0,03	1,69±0,01	1,56±0,04
5	1,80±0,02	1,77±0,03	1,79±0,01	1,79±0,02	1,66±0,03	1,61±0,02
Содержание билирубина, мкмоль/л						
1	4,29±0,13	4,82±0,02	4,72±0,02	4,57±0,05	4,39±0,02	4,33±0,04
2	4,24±0,03	4,87±0,06	4,53±0,06	4,49±0,06	4,43±0,06	4,51±0,01
3	4,34±0,02	4,78±0,03	4,64±0,06	4,61±0,06	4,66±0,04	4,63±0,04
4	4,30±0,11	4,54±0,04	4,69±0,01	4,65±0,01	4,69±0,01	4,62±0,02
5	4,34±0,06	4,33±0,07	4,45±0,09	4,35±0,09	4,30±0,02	4,37±0,01

Примечание – уровень статистически значимого различия *(P<0,001), **(P<0,01), ***(P<0,05) приводится в сравнении с контрольной группой

При изучении содержания кальция в сыворотке крови (таблица 7) было установлено, что под влиянием препаратов из вахты трехлистной существенных изменений в его количестве не произошло. Однако с тем, к концу исследования в опытных группах содержание его возросло с $2,36 \pm 0,02$ ммоль/л до $3,01 \pm 0,12$ ммоль/л. В то же время у поросят контрольной группы оно составляло $2,38 \pm 0,02 - 2,39 \pm 0,02$ ммоль/л.

Аналогичные изменения установлены и при изучении динамики железа. В то же время к концу опыта количество железа в опытных группах было выше ($14,5 \pm 0,3 - 17,7 \pm 0,45$ мкмоль/л, $P < 0,01$). При этом более высокие показатели были в третьей

($16,2 \pm 0,25$ мкмоль/л) и четвертой группах ($17,7 \pm 0,45$ мкмоль/л).

Количество неорганического фосфора в течение опыта увеличилось с $2,55 \pm 0,01 - 2,56 \pm 0,03$ ммоль/л до $2,67 \pm 0,04 - 2,78 \pm 0,09$ ммоль/л ($P < 0,001$). В сыворотке крови поросят контрольной группы количество неорганического фосфора значительно не изменилось. Так, в начале опыта количество этого микроэлемента составляло $2,59 \pm 0,05$ ммоль/л, в конце опыта – $2,56 \pm 0,03$ ммоль/л ($P < 0,01$).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии изучаемых препаратов на обменные процессы в организме поросят.

Таблица 7. – Динамика некоторых показателей минерального обмена веществ в сыворотке крови ($M \pm m$)

Группы животных	До применения препарата	Дни исследований после применения препарата				
		3	5	10	15	30
Содержание кальция, ммоль/л						
1	$2,37 \pm 0,01$	$2,74 \pm 0,27$	$3,09 \pm 0,01$	$3,13 \pm 0,01$	$3,05 \pm 0,01$	$2,95 \pm 0,03$
2	$2,43 \pm 0,02$	$2,75 \pm 0,26$	$2,98 \pm 0,14$	$3,08 \pm 0,22$	$3,29 \pm 0,22$	$2,88 \pm 0,02$
3	$2,36 \pm 0,03$	$2,80 \pm 0,14$	$2,95 \pm 0,05$	$2,88 \pm 0,02$	$3,03 \pm 0,12$	$2,87 \pm 0,01$
4	$2,39 \pm 0,01$	$3,25 \pm 0,05$	$3,09 \pm 0,02$	$3,32 \pm 0,32$	$3,19 \pm 0,05$	$3,01 \pm 0,12$
5	$2,38 \pm 0,04$	$2,38 \pm 0,02$	$2,39 \pm 0,02$	$2,38 \pm 0,02$	$2,37 \pm 0,06$	$2,39 \pm 0,1$
Содержание магния, ммоль/л						
1	$0,9 \pm 0,03$	$0,83 \pm 0,04$	$0,85 \pm 0,04$	$0,81 \pm 0,01$	$0,94 \pm 0,01$	$0,73 \pm 0,18$
2	$0,83 \pm 0,07$	$0,81 \pm 0,13$	$0,93 \pm 0,02$	$0,91 \pm 0,03$	$0,88 \pm 0,04$	$0,89 \pm 0,04$
3	$0,74 \pm 0,06$	$0,89 \pm 0,01$	$0,89 \pm 0,02$	$0,95 \pm 0,01$	$0,89 \pm 0,03$	$0,92 \pm 0,04$
4	$0,83 \pm 0,02$	$0,91 \pm 0,05$	$0,85 \pm 0,02$	$0,95 \pm 0,1$	$0,87 \pm 0,01$	$0,88 \pm 0,03$
5	$0,85 \pm 0,09$	$0,79 \pm 0,01$	$0,79 \pm 0,04$	$0,69 \pm 0,1$	$0,85 \pm 0,02$	$0,87 \pm 0,09$
Содержание железа, мкмоль/л						
1	$12,70 \pm 0,9$	$15,15 \pm 0,85$	$16,10 \pm 0,3$	$16,45 \pm 0,35$	$16,10 \pm 0,2$	$15,15 \pm 0,15$
2	$13,55 \pm 1,05$	$15,50 \pm 0,3$	$16,65 \pm 0,35$	$15,15 \pm 0,05$	$18,0 \pm 0,8$	$14,50 \pm 0,3$
3	$12,75 \pm 0,85$	$15,50 \pm 1,7$	$17,05 \pm 0,15$	$17,25 \pm 0,35$	$17,30 \pm 0,7$	$16,15 \pm 0,25$
4	$13,65 \pm 0,65$	$18,40 \pm 0,4$	$17,65 \pm 0,45$	$18,60 \pm 0,3$	$18,65 \pm 0,55$	$17,65 \pm 0,45^{**}$
5	$12,0 \pm 0,3$	$13,80 \pm 0,2$	$12,85 \pm 0,05$	$12,0 \pm 0,4$	$13,55 \pm 0,65$	$13,60 \pm 0,6$
Содержание неорганического фосфора, ммоль/л						
1	$2,56 \pm 0,03$	$2,70 \pm 0,01$	$2,70 \pm 0,04$	$2,72 \pm 0,03$	$2,73 \pm 0,01$	$2,67 \pm 0,04$
2	$2,61 \pm 0,01$	$2,68 \pm 0,02$	$2,72 \pm 0,03$	$2,69 \pm 0,05$	$2,74 \pm 0,01$	$2,71 \pm 0,02$
3	$2,56 \pm 0,02$	$2,73 \pm 0,01$	$2,82 \pm 0,02$	$2,79 \pm 0,05$	$2,82 \pm 0,05$	$2,78 \pm 0,09$
4	$2,55 \pm 0,01$	$2,88 \pm 0,02$	$2,82 \pm 0,05$	$2,91 \pm 0,01$	$2,81 \pm 0,01$	$2,78 \pm 0,01^*$
5	$2,59 \pm 0,05$	$2,1 \pm 0,05$	$2,59 \pm 0,02$	$2,56 \pm 0,03$	$2,52 \pm 0,02$	$2,56 \pm 0,03^{**}$

Примечание – уровень статистически значимого различия $^*(P < 0,001)$, $^{**}(P < 0,01)$, $^{***}(P < 0,05)$ приводится в сравнении с контрольной группой

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, препаративные формы вахты трехлистной оказывают стимулирующее действие на организм, положительно влияют на гемопоэз в организме поросят. Настой, отвар из листьев вахты трехлистной, вахтоцид и мениант оказывают стимулирующее влияние на фагоцитарную активность нейтрофилов, лизоцимную и бактерицидную активность нейтрофилов. Изучаемые препараты не оказывают суще-

ственного влияния на активность щелочной фосфатазы, аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в сыворотке крови что свидетельствует об отсутствии токсического воздействия изучаемых препаратов на ферментативную функцию у поросят. Препараты из вахты трехлистной положительно влияют на обменные процессы в организме поросят (обмен белков, углеводов, липидов, азотистый, пигментный и минеральный обмен).

ЛИТЕРАТУРА

1. Клиническая фармакология / В.Д. Соколов [и др.]; под ред. В.Д. Соколова. – М.: Колос С, 2002. – 464 с.
2. Кудрявцев, А.А. Клиническая гематология животных / А.А. Кудрявцев, Л.А. Кудрявцева. – М.: Колос, 1974. – 375 с.
3. Мотузко, Н.С. Физиологические показатели животных: справочник / Н.С. Мотузко, Ю.И. Никитин, В.К. Гусаков. – Минск: Техноперспектива, 2014. – 104 с.
4. Мазнев, Н.И. Энциклопедия лекарственных растений / Н.И. Мазнев. – М.: Мартин, 2004. – 494 с.
5. Скопичев, В.Г. Физиолого-биохимические основы резистентности животных: учеб. пособие / В.Г. Скопичев, Н.Н. Максимюк. – СПб., М., Краснодар: Лань, 2009. – 352 с.
6. Холод, В.М. Клиническая биохимия: учеб. пособие для студентов вузов по специальности «Ветеринарная медицина»: в 2 ч. / В.М. Холод, А.П. Курдеко. – Витебск: УО ВГАВМ, 2005. – Ч. 1. – 189 с.
7. Холод, В.М. Клиническая биохимия: учеб. пособие для студентов вузов по специальности «Ветеринарная медицина»: в 2 ч. / В.М. Холод, А.П. Курдеко. – Витебск: УО ВГАВМ, 2005. – Ч. 2. – 170 с.
8. Ятусевич, А.И. Новые фитопрепараты из зверобоя продырявленного при лечении эймериозов у свиней / А.И. Ятусевич, В.Д. Авдаченко, И.А. Ятусевич // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2017. – № 1. – С. 43–48.
9. Хованских, А.Е. Биохимия кокцидий и кокцидиозов / А.Е. Хованских. – Л.: Наука, 1984. – 190 с.
10. Губанов, И.А. Дикорастущие полезные растения СССР / И.А. Губанов, И.Л. Крылова, В.Л. Тихонова. – М.: Мысль, 1976. – С. 270–272.
11. Парфёнов, В.И. Энциклопедия фитоветеринарии. Сельскохозяйственные животные / В.И. Парфёнов. – М.: АСТ, Центральный книжный двор, 2004. – 319 с.
12. Карпуть, И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка / И.М. Карпуть. – Минск: Ураджай, 1993. – 288 с.
13. Дорофейчук, В.Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом / В.Г. Дорофейчук // Лабораторное дело. – 1968. – № 1. – С. 28–30.
14. Абрамов, С.С. Методические указания по определению естественной резистентности и путях её повышения у молодняка сельскохозяйственных животных / С.С. Абрамов, А.Ф. Могиленко, А.И. Ятусевич. – Витебск, 1989. – 40 с.

наша продукция



Довнар Д.В., аспирант¹

Войтка Д.В., кандидат биологических наук²

Каплич В.М., доктор биологических наук, профессор³

¹ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», г. Минск

²РУП «Институт защиты растений», аг. Прилуки

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

БИОЛОГИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ КОНТРОЛЯ ЧИСЛЕННОСТИ КРОВОСОСУЩИХ МОШЕК (DIPTERA: SIMULIIDAE) В ВОДОТОКАХ БЕЛОРУССКОГО ПООЗЕРЬЯ

Резюме

В статье рассматриваются паразиты и хищники кровососущих мошек в водотоках Белорусского Поозерья. В сравнительном аспекте описана биологическая активность кристаллоносных бацилл *Bacillus thuringiensis* и энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* на мошках *Wilhelmia equina* L. III-го возраста.

Показано, что паразитами преимагинальных фаз мошек являются микроспоридии, мермитиды и грибы. Полученные в лабораторных опытах данные показывают перспективность использования исследуемых штаммов *B. thuringiensis* для регуляции численности кровососущих насекомых, в частности семейства Simuliidae.

Summary

The paper deals with the parasites and predators of blackflies in water-currents of the Belarusian Lakeland. It is described the biological activity of collection strains of *Bacillus thuringiensis* and also an entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on *Wilhelmia equina* larvae of the third age in a comparative aspect.

It was shown that the parasites of the preimaginal stages of blackflies are microsporidia, mermitida and fungi. The data resulting from the study suggest the possibility of using *B. thuringiensis* studied strains to population control of blood-sucking insects in particular of the family Simuliidae.

Поступила в редакцию 10.10.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Белорусское Поозерье занимает северную часть Беларуси и административно включает Витебскую область и несколько северных районов Минской и Гродненской областей. Регион сформировался в результате последнего Поозерского оледенения и выделяется по сравнению с другими регионами республики своеобразием климата и сложностью рельефа [1]. Территория Поозерья относится в основном к бассейну р. Западная Двина (81 %) и характеризуется сравнительно развитой гидрографической сетью с большим количеством озер (около 2,8 тыс.). По густоте речной сети район входит в число первых в Беларуси (45 км на 100 км² территории) [2]. Разветвленная речная сеть создает благоприятные условия для распространения мошек, основным местом выплода и размножения которых яв-

ляются проточные водоемы.

Мошки широко распространены и развиваются только в водотоках с высоким содержанием растворенного в воде O₂. Являясь массовыми кровососами, они причиняют беспокойство и вред как человеку, так и сельскохозяйственным животным, вызывая снижение их продуктивности [3, 18]. Симулииды также играют роль в процессе передачи возбудителей болезней человека и животных: онхоцеркоза, анаплазмоза, туляремии и др. [5, 12]. Особенно остро проблема кровососущих мошек стоит на территории санитарно-оздоровительных учреждений вдоль крупных водных артерий (рр. Зап. Двина, Дисна). Выплод кровососов совпадает с периодом отдыха населения, лишая его полноценного оздоровления. В мировой литературе имеются данные, согласно которым в период лета

насекомых сокращается количество туристов на 85 %, в результате чего годовые потери составляют около 250 тыс. долларов [15].

Вред, наносимый кровососами, обуславливает проведение мероприятий, направленных на снижение численности их популяции. До недавнего времени наиболее распространенным методом защиты от кровососущих насекомых был химический метод. Но он при высокой эффективности имеет существенные недостатки: во-первых, химические инсектициды в большинстве своем универсальны и убивают не только вредных, но и полезных насекомых (опылителей); во-вторых, они загрязняют окружающую среду; в-третьих, за многолетнюю практику применения инсектицидов насекомые многих видов приобрели устойчивость к ним [20]. Исходя из этого, следует ограничить применение этих средств и проводить исследования по разработке экологически безопасных и безвредных для человека и окружающей среды способов защиты от гнуса.

Альтернативным методом регуляции численности кровососов является биологический метод, который включает в себя использование хищников, паразитов и биопрепаратов. Широкий спектр хищников и паразитов можно рассматривать как естественных врагов мошек. Хищники мошек могут варьировать от беспозвоночных, птиц и рыб до млекопитающих. Паразиты и патогенные микроорганизмы также играют важную роль в регулировании численности кровососов. К ним относятся вирусы, бактерии, грибы, простейшие и нематоды [16, 17, 19]. В ходе нашего исследования основной акцент был сделан на паразитах водных фаз мошек.

Целью данного исследования являлось изучение биологических агентов контроля численности мошек в водотоках Белорусского Поозерья и выявление перспективных агентов для борьбы с гнусом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для настоящей работы послужили паразиты мошек, собранные в результате стационарных и маршрутных

исследований водотоков бассейна р. Западная Двина, а также штаммы энтомопатогенных бактерий *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* (*B. thuringiensis* 2, *B. thuringiensis* 4), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (16-91) и штамм энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. 10-06 – основа коммерческого препарата Melobass®, пс. коллекционного фонда РУП «Институт защиты растений». Лабораторные опыты проводились в условиях инсектария лаборатории микробиологического метода защиты растений Института защиты растений НАН Беларуси.

Сборы преимагинальных фаз симулиид осуществлялись общепринятыми методами [4, 11]. Личинок мошек, подозрительных на заражение микроспоридиями, мермитидами и грибами, определяли визуально или с помощью лупы по вздутию и окраске заднего конца тела с последующим их исследованием под микроскопом.

Видовую идентификацию симулиид проводили по И.А. Рубцову (1956), А.В. Янковскому (2002) и В.М. Капличу с соавторами (2015). Микроспоридиоз мошек изучали по методике И.В. Исси с соавторами (1990), мермитидоз – по И.А. Рубцову (1978), микоз – по Э.З. Коваль (1974).

Ларвицидную активность коллекционных штаммов энтомопатогенных бактерий *B. thuringiensis* и гриба *B. bassiana* оценивали по методике, предложенной Всемирной организацией здравоохранения, на личинках кровососущих мошек *W. equina*.

Лабораторное культивирование штаммов кристаллоносных бацилл *B. thuringiensis* проводили на лабораторной качалке ИКА®KS 260 basic в колбах емкостью 750 мл при температуре 28 °С и скоростью вращения качалки 250 об/мин в течение 48 часов на питательной среде следующего состава (%): меласса – 3,0; дрожжевой экстракт – 2,5; K₂HPO₄ – 0,15; (NH₄)₂SO₄ – 0,15; MgSO₄ – 0,01, FeSO₄ – 0,0001. Количество жизнеспособных спор определяли путем высева из серийных разведений суспензий на мясопептонный агар.

Культивирование энтомопатогенного гриба *B. bassiana* проводили на лаборатор-

ной качалке ИКА®KS 260 basic в колбах емкостью 750 мл при температуре 26 °С и скорости вращения качалки 200 об/мин в течение 72 часов на питательной среде следующего состава (%): меласса – 2,0, глицерин – 2,0, пептон – 2,0, NaNO₃ – 0,1, MgSO₄ – 0,1, K₂HPO₄ – 0,1, вода водопроводная – до 100. Количество спор определяли с помощью гемоцитометра (камеры Горяева).

Для лабораторных исследований личинок мошек отлавливали в водотоках и вместе с субстратом помещали в емкости, заполненные речной водой, и доставляли в лабораторию. Затем личинок III-го возраста рассаживали по 30 особей в химические стаканы с 400 мл воды из мест обитания мошек. Для аэрации воды использовали микрокомпрессоры Barbus Air 002 (рисунок 1).



Рисунок 1. – Лабораторная установка

Гибель личинок отмечали через каждые 12 ч. Использовали не менее 3-х концентраций, каждую из которых испытывали в 3-х повторностях.

Смертность для каждой концентрации, с поправкой на гибель в контроле, вычисляли по формуле Аббота (1):

$$C = 100 \times \frac{(Ba - Ab)}{Aa}, \quad (1)$$

где C – процент смертности особей с поправкой на контроль;

A и a – общее число особей в опытном варианте и контроле соответственно;

B и b – количество погибших особей в опытном варианте и контроле соответственно.

Расчет полулетальной дозы (LD₅₀) производился по методу Кербера (2):

$$LD_{50} = LD_{100} - \sum \frac{(z \times D)}{n}, \quad (2)$$

где LD₁₀₀ – доза препарата, которая вызвала эффект у всех тест-объектов в группе;

D – интервал между двумя смежными

дозами;

Z – среднее арифметическое из двух значений числа тест-объектов, у которых проявился положительный эффект при воздействии каждой из двух смежных доз;

n – число тест-объектов в группе.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Согласно нашим исследованиям, одним из важнейших регуляторов численности личинок мошек в водотоках исследуемого региона являются микроспоридии. Всего выявлено четыре вида микроспоридий из трех родов: *Pleistophora simulii* (Lutz et Splendore, 1904), *Vovraia multisporea* (Strickland, 1911), *Amblyospora bracteata* (Strickland, 1913) и *A. varians* (Leger, 1897).

В обследованных водотоках микроспоридии зарегистрированы у личинок *Schoenbaueria pusilla* (Fries, 1824), *W. balcanica* (Enderlein, 1924), *W. equina* (Linnaeus, 1746), *W. lineata* (Meigen, 1804), *Boopthora erythrocephala* (De Geer, 1776), *Odagmia ornata* (Meigen, 1818), *Argentisimulium noelleri* (Friederichs, 1920), *Simulium morsii-*

tans (Edwards, 1915) и *Sim. promorsitans* (Rubtsov, 1956). Личинки доминирующих видов (*B. erythrocephala* (индекс доминирования (ИД) 34,3 %) и *O. ornata* (ИД 8,4 %)) заражены в 4–5 раз выше (экстенсивность инвазии (ЭИ) 25,0 % и 17,6 % соответственно) по сравнению с другими, встречающимися в сборах. Приуроченность отдельных видов микроспоридий к отдельным видам мошек не установлена. Стоит отметить, что наибольшая зараженность личинок паразитами наблюдается в водотоках с высокой численностью и видовым разнообразием их хозяев. Личинки, зараженные микроспоридиями, встречались во всех типах водотоков, во всех поколениях, при этом экстенсивность заражения популяций мошек колебалась в течение сезона, но особенно высока была во второй половине лета.

Споры микроспоридий попадают в личинку перорально и локализуются в жировом теле симулиид, где развиваются как облигатный внутриклеточный паразит. Пораженные личинки отличаются беловато-желтым цветом брюшка и увеличенными размерами, через кутикулу просвечиваются бесформенные белые, кремовые или розовые скопления. Выраженные признаки заражения отмечены у личинок старшего возраста. Зараженные микроспоридиями личинки слабо удерживаются на субстрате и легко уносятся потоком воды. Окукливание пораженных особей не происходит [8, 16].

Личинки мошек также поражаются грибами. Установлено [14], что около 750 видов грибов вызывают инфекции у насекомых и клещей. В наших сборах энтомопатогенный гриб *Coelomycidium simulii* (Debais, 1919) обнаружен у 9 видов мошек: *B. erythrocephala*, *Sch. pusilla*, *W. equina*, *Od. ornata*, *Arg. noelleri*, *Sim. rostratum*, *Sim. morsitans*, *Sim. paramorsitans* и *Sim. promorsitans*. Заражение личинок мошек грибами отмечали на протяжении всего летнего периода с двумя подъемами численности пораженности личинок – в начале лета и сентябре. Инфицированных особей находили в средних и малых реках, ручьях и мелиоративных каналах. Наибольшее количество пораженных личинок отмечено в водотоках,

сильно заросших водной растительностью. Чаще всего инфицированы *B. erythrocephala* (ЭИ 8,6 %) и *W. equina* (ЭИ 2,1 %). В основном гриб поражает жировое тело особи, а также покровы, гонады и нервную систему [14]. Размеры инфицированных и неинфицированных личинок существенно не отличаются. Пораженные грибом личинки имеют розовато-коричневый цвет брюшка.

Как биорегуляторы численности вредных насекомых важную роль играют мермитиды [10, 17]. Поражение личинок мошек мермитидами регистрировали с июля по сентябрь, с максимумом во второй половине лета (54 % случаев инфицирования), в чистых проточных водоемах, не загрязненных промышленными отходами. Видовую принадлежность мермитид определить нам не удалось, согласно данным Daniel P. Molloy [17], наиболее распространенными мермитидами, паразитирующими у мошек, являются представители родов *Mesomermis* (Daday, 1911), *Gastromermis* (Micoletzky, 1923) и *Isomermis* (Coman, 1953).

На территории Белорусского Поозерья мермитиды способны заражать личинок 6 видов мошек из 4 родов: *W. equina*, *W. lineata*, *B. erythrocephala*, *Arg. noelleri*, *Sim. promorsitans* и *Sim. morsitans*. Более подвержены заражению личинки *B. erythrocephala* (ЭИ около 10 %). Единичные случаи паразитирования зарегистрированы у *Arg. noelleri* (ЭИ 0,4 %). Отдельные особи были инфицированы несколькими нематодами, которые видны через кутикулу хозяина. Паразит локализуется в брюшном отделе тела личинки. Зараженные мермитидами личинки мошек в 1,5–2 раза крупнее, чем здоровые личинки. Влияние паразита на хозяина проявляется в задержке его развития, что, вероятно, является следствием сильного истощения из-за недостатка питательных веществ, а не активного влияния паразита на гормональную систему хозяина [17].

В настоящее время к числу перспективных агентов контроля численности кровососущих двукрылых, наносящих серьез-

ный экономический ущерб, относятся споробразующие бактерии *B. thuringiensis*, энтомопатогенные грибы, а также препараты, разработанные на их основе [9, 14, 19].

Патогенное действие *B. thuringiensis* на насекомых связано с токсинами и другими метаболитами бактерий. Однако различные штаммы *B. thuringiensis* обладают разными патогенными свойствами по отношению к таксономическим группам насекомых. Так, известны штаммы, отличающиеся патогенностью по отношению к личинкам чешуекрылых, двукрылых [9]. Поэтому важна оценка энтомопатогенности отдельных штаммов *B. thuringiensis* по отношению к конкретным таксономическим группам насекомых.

Таблица 1. – Биологическая активность микробиологических агентов в отношении личинок мошек III-го возраста *W. equina*

Титр, спор/мл	<i>B. thuringiensis</i> 2		<i>B. thuringiensis</i> 4		<i>B. thuringiensis</i> 16–91		<i>B. bassiana</i> 10–06	
	Биологическая активность с поправкой на контроль, (%) при экспозиции							
	12 ч	24 ч	12 ч	24 ч	12 ч	24 ч	12 ч	24ч
$1-2 \times 10^2$	10,0	50,0	11,1	64,4	20,0	42,2	0,04	8,8
$1-2 \times 10^3$	36,7	86,6	15,5	84,4	17,7	62,2	0,04	4,4
$1-2 \times 10^4$	53,3	96,7	31,1	55,5	37,7	84,3	8,8	40,0
LD ₅₀ (спор/мл)	$2,1 \times 10^3$		$5,8 \times 10^3$		$5,09 \times 10^3$		$1,3 \times 10^4$	

Причем, в вариантах со штаммом *B. thuringiensis* 2 до 50 % особей погибло в течение 12 часов (LD₅₀ составляла $2,1 \times 10^3$ спор/мл). Эффективность штаммов *B. thuringiensis* 4 и *B. thuringiensis* 16–91 была практически на одном уровне (LD₅₀ составляла $5,8 \times 10^3$ спор/мл и $5,09 \times 10^3$ спор/мл соответственно).

Из данных таблицы 1 видно, что энтомопатогенный гриб *B. bassiana* по сравнению со штаммами *B. thuringiensis* против личинок мошек проявил меньшую ларвицидную активность в 2,78 раза ($p < 0,05$). Однако следует отметить, что энтомопатогенные грибы в отличие от бактерий растут и развиваются относительно медленно, и их энтомоцидное действие обусловлено другими механизмами. Эффект от энтомопатогенных грибов наступает через 1–2 недели

Грибные биопестициды также имеют большие перспективы в качестве альтернативных биорегуляторов насекомых. Один из наиболее распространенных в мире энтомопатогенных грибов, поражающий насекомых разных отрядов, в том числе кровососущих двукрылых, и активно используемый для создания экологически безопасных инсектицидных препаратов, является *B. bassiana* [19].

Результаты лабораторных экспериментов показали, что все исследуемые штаммы *B. thuringiensis* оказались высокоэффективными в отношении личинок мошек: гибель личинок достигала 96,7 % в течение суток при использовании штамма *B. thuringiensis* 2 (таблица 1).

и сохраняется дольше [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате анализа литературных данных и собственных исследований установлено, что паразитами преимагинальных стадий мошек выступают микроспоридии, мермитиды и грибы. Заражение симулиид паразитом определенного вида зависит от экологических условий обитания. Основными регуляторами численности мошек в проточных водоемах являются микроспоридии. Более слабое развитие инфекции вызывают грибы и мермитиды. Проведенные лабораторные эксперименты показали высокую эффективность исследуемых штаммов *B. thuringiensis* против преимагинальных фаз кровососущих мошек. Полученные в лабораторных модельных опытах

данные позволяют сделать вывод о перспективности использования штаммов *B. thuringiensis* 2, *B. thuringiensis* 4 и *B. thuringiensis* 16-91 для промышленного производ-

ства бактериальных препаратов с целью контроля численности личинок кровососущих мошек.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мержвинский, Л.М. Биологическое разнообразие Белорусского Поозерья: монография / Л.М. Мержвинский [и др.]; под общ. ред. Л.М. Мержвинского. – Витебск: УО «ВГУ им. П.М. Машерова», 2011. – 413 с.
2. География Белоруссии: учеб. для студентов геогр. фак. высш. учеб. заведений, под ред. В.А. Дементьева [и др.]. – 2-е изд. – Минск: Выш. шк., 1977. – 320 с.
3. Каплич, В.М. Кровососущие мошки (Diptera, Simuliidae) Республики Беларусь: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.19 / В.М. Каплич; Ин-т паразитологии РАН. – М., 1999. – 34 с.
4. Каплич, В.М. Кровососущие мошки лесной зоны / В.М. Каплич, З.В. Усова. – Минск: Ураджай, 1990. – 176 с.
5. Капліч, В.М. Мошкі (Diptera, Simuliidae) – магчымыя носыбіты узбуджальніка анплазмозу буйной рагатай жывёлы / В.М. Капліч // Весці Акадэміі навук БССР. Серыя біялагічных навук. – 1985. – № 6. – С. 89–91.
6. Каплич, В.М. Мошки (Diptera, Simuliidae) смешанных лесов Европы / В.М. Каплич, Е.Б. Сухомлин, А.П. Зинченко. – Минск: Новое знание, 2015. – 464 с.
7. Коваль, Э.З. Определитель энтомопатогенных грибов СССР / Э.З. Коваль. – Киев: Наукова думка, 1974. – 260 с.
8. Микроспоридии мошек (определение и краткое описание микроспоридий мировой фауны) / И.В. Исси [и др.]; под общ. ред. А.М. Дубицкого. – Ташкент: Фан, 1990. – С. 124.
9. Оценка лепидоцидной активности биологических препаратов на основе штаммов *Bacillus thuringiensis* / М.В. Лозовская [и др.] // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК. – 2014. – № 4. – С. 82–87.
10. Рубцов, И.А. Мермитиды. Классификация, значение, использование / И.А. Рубцов. – Л.: Наука, 1978. – 208 с.
11. Рубцов, И.А. Мошки (сем. Simuliidae). Фауна СССР Насекомые двукрылые / И.А. Рубцов – М. – Л.: Наука, 1956. – 860 с.
12. Самойлова, Т.И. Арбовирусы в Республике Беларусь: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.06; 14.00.30 / Т. И. Самойлова; ГУ НИИЭМ МЗ РБ. – Минск, 2003. – 41 с.
13. Янковский, А.В. Определитель мошек (Diptera, Simuliidae) России и сопредельных территорий (бывшего СССР) / А.В. Янковский. – СПб, 2002. – 570 с.
14. Abdel Ghany, T.M. Entomopathogenic fungus and their role in biological control / T.M. AbdelGhany. – Foster City: OMICS Group eBooks, 2015. – 46 p.
15. Economic losses during an outbreak of *Simulium* (*Wilhelmia*) species (Diptera: Simuliidae) in the Cappadocia region of Turkey / S. Sariözkan [et al.] / *Turkiye Parazitol Derg.* – 2014. – № 38. – P. 116–119.
16. Maurand, J. Comparative histopathological effects of coelomic parasites (Chytridiales: Microsporides) of simuliid larvae / J. Maurand, J.F. Manier // *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* – 1968. – № 43. – P. 79–85.
17. Molloy, Daniel P. Mermithid parasitism of black flies (Diptera: Simuliidae) / Daniel P. Molloy // *Journal of nematology.* – 1981. – Vol. 13, № 3. – P. 250–256.
18. Niesiolowski, S. Meszki (Simuliidae) gor Swientokrzyskich / S. Niesiolowski // *Wiad. Parazytol.* – 1978. – Vol. 41, № 5. – P. 597–608.
19. Ramirez, José L. Entomopathogenic fungal infection leads to temporospatial modulation of the mosquito immune system / José L. Ramirez / *PLoS Negl Trop Dis.* [Electronic resource]. – 2018. – № 12. – Mode of access <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006433>. – Date of access: 02.10.2018.
20. Regional susceptibilities of *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae) to ten insecticides / Y. Zuo [et al.] // *Florida Entomologist* – 2016. – Vol. 99, № 2.

Шендрик Т.В., кандидат биологических наук

ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», г. Минск

СООБЩЕСТВО МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ И ИХ ГЕЛЬМИНТОВ В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗАЦИИ

Резюме

Проведен анализ структуры сообщества мышевидных грызунов и их эндопаразитов на территории города Минска. Выявлены основные изменения в видовом составе и численности грызунов и их паразитов на урбанизированной территории по сравнению с естественными условиями обитания. Проанализированы особенности пространственного распределения грызунов и их паразитов на городской территории, выделены наиболее многочисленные и широко распространенные в урболандшафте группы грызунов и их паразитов.

Summary

The structure of the community of rodents and their endoparasites in the city of Minsk was analyzed. The main changes in the species composition and abundance of rodents and their parasites in urbanized areas have been revealed in comparison with natural habitats. The peculiarities of the spatial distribution of rodents and their parasites in urban areas are analyzed, the most numerous and widespread groups of rodents and their parasites are identified in the Urbollandscape.

Поступила в редакцию 20.06.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Человеческая деятельность все более значительно преобразует окружающую среду, качественно изменяя облик природных ландшафтов и состояние популяций живых организмов. Одним из наиболее существенных ее видов является строительство городов, в результате чего формируются территории, качественно отличающиеся от природных аналогов. Синантропия и урбанизация – феномены, вызванные, прежде всего, возникновением городов и тесно связанные с их строительством и развитием. Сама возможность существования вида в этих качественно новых условиях обитания требует сочетания уникальных экологических, поведенческих, физиологических и морфологических приспособлений. Процесс освоения городских ландшафтов проходит на уровне местных или географических популяций, всего видового населения или же сообществ животных отдельных биоценозов. Он сопровождается отбором, отмечающим большое число стенобионтных, недостаточно пластичных видов, которые не находят в новых условиях благоприятных жизненных ниш. Мелкие млекопитающие,

а также их паразиты составляют неотъемлемую часть урбанизированных территорий и являются удобной моделью для анализа изменений в качественных и количественных характеристиках сообществ паразитов и хозяев, их пространственной и временной динамики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Учет численности мышевидных грызунов и их гельминтов проводился на территории крупного административного и промышленного центра г. Минска. В основу выбора мест исследований в городской черте были положены особенности биотопического распределения мышевидных грызунов, которые целесообразно разделить на два крупных ландшафтообразующих компонента – это техногенные территории, включающие в себя застройки, несущие разную функциональную нагрузку и нетехногенные – незастроенные территории [9]. Мышевидные грызуны на исследуемых территориях отлавливались методом ловушко-линий бестрапиковыми плашками «Геро» [4, 5]. В качестве контроля использованы результаты гельминтологических

исследований, полученные в наиболее типичных биотопах (сосняки, ельники, ольшаники, дубравы и луга) Березинского биосферного заповедника (ББЗ), территория которого сравнительно полно отражает природу Беларуси, особенно её центральную и северную части. Влияние антропогенной трансформации (урбанизации) на структуру сообщества мышевидных грызунов и их гельминтов исследовалось методом ее сравнительной оценки на естественных природных и урбанизированных территориях.

За период исследований на городской территории отловлено 1695 мышевидных грызунов 9-и видов: рыжая полевка – *Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780; полевка-экономка – *Microtus (Pallasiinus) oeconomus* Pallas, 1776; обыкновенная полевка – *Microtus (Microtus) arvalis* Pallas, 1779; полевая мышь – *Apodemus (Apodemus) agrarius* Pallas, 1771; обыкновенная лесная мышь – *A. (Sylvaemus) sylvaticus* L., 1758; желтогорлая мышь – *Apodemus (Sylvaemus) flavicollis* Melchior 1834; домовая мышь – *Mus musculus Linnaeus*, 1758; серая крыса, или пасюк – *Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769; черная крыса – *Rattus rattus Linnaeus*, 1758. У них зарегистрировано 11818 экземпляров паразитических червей 25-ти видов: *Aprostotandrya macrocephala* (Douthitt, 1915), *Catenotaenia cricetorum* (Kirschenblatt, 1949), *Catenotaenia pusilla* (Goeze, 1782), *Skrjabinotaenia lobata* (Baer, 1925), *Hymenolepis diminuta* Rudolphi, 1819; *Hymenolepis horrida* (Linstow, 1901); *Rodentolepis straminea* (Goeze, 1782), *Hydatigera taeniaeformis* (Batsch, 1786) – larvae, *Plagiorchis elegans* (Rudolphi, 1802), *Trichocephalus muris* Schrank, 1788, *Heligmosomoides glareoli* (Baylis, 1928), *Heligmosomoides laevis* (Dujardin, 1845), *Heligmosomoides polygyrus* (Dujardin, 1845), *Heligmosomum borealis* (Schulz, 1930), *Heligmosomum costellatum* (Dujardin, 1845), *Heligmosomum mixtum* (Schulz, 1952), *Ganguleteralis spumosa* (Schneider, 1866), *Syphacia agraria* (Sharpilo, 1973), *Syphacia frederici* (Roman, 1945), *Syphacia montana* Yamagutti, 1943, *Syphacia muris* (Yamaguti, 1935), *Syphacia nigeriana* (Baylis,

1928), *Syphacia obvelata* (Rudolphi, 1802), *Syphacia petrusewiczii* (Bernard, 1966), *Syphacia stroma* (Linstow, 1884). Видовая принадлежность мышевидных грызунов проведена с помощью определителя млекопитающих фауны России и сопредельных территорий [2]. Выделение экологических групп мышевидных грызунов (экзоантропны, гемисинантропны, синантропы) проведено согласно классификации, предложенной Кучеруком [6]. Гельминтологическое обследование грызунов, изготовление временных и постоянных препаратов и окраска гельминтов проводилось по общепринятой методике [3]. Видовое определение паразитических червей проводилось с помощью определителей [1, 7, 8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Мелкие млекопитающие, являющиеся наиболее массовой группой животных в природных экосистемах, адаптировались и к жизни в городской среде. Эта группа животных непосредственно воспринимает давление тех или иных негативных факторов и вместе с паразитами может служить показателем преобразования среды. В результате изменения естественных территорий под влиянием процесса урбанизации кардинально преобразуются условия обитания мышевидных грызунов, что в первую очередь отражается на их видовом составе и относительной численности. Анализ сообщества мышевидных грызунов, обитающих в городе и на территории Березинского биосферного заповедника, выявил высокое фаунистическое сходство ($K_s=0,59$). Установлено, что широко распространенные для территории Беларуси грызуны обитают и в городской среде. Это такие виды, как рыжая и обыкновенная полевки, желтогорлая и лесная мыши. Не регистрируемая в ББЗ, но многочисленная для территории республики полевая мышь также активно осваивает городские ландшафты, а на некоторых участках достигает высокой численности ($2,68 \pm 0,42$ экз./100 л.-суток – плотность популяции грызунов). В городе не обнаружены стенобионтные немногочисленные для Беларуси виды,

как например, мышь-малютка, лесная соя. Немногочисленная для ББЗ полевка-экономка на городской территории регистрировалась нами в единичных экземплярах. Обогащение городской родентофауны происходит за счет группы синантропов (домовая мышь, серая и черная крысы) ($4,55 \pm 0,94$; $1,82 \pm 0,86$ и $0,88 \pm 0,46$ экз./100 л.-суток соответственно), обитающих преимущественно в зоне городской застройки. Значительные преобразования в количественных показателях ($K_n=0,21$), обнаруженные нами при сравнительной оценке двух территорий, обусловлены особенностью сложившихся условий обитания видов в городской среде и различной степенью освоения ими городских ландшафтов. Так, средняя численность грызунов на городской территории ($9,82$ экз./100 л.-суток) значительно возрастает ($t=8,57$; $p=0,001$) по сравнению с контролем. При этом плотность популяции рыжей полевки, абсолютного доминанта в естественных условиях обитания ($2,93 \pm 0,18$ экз./100 л.-суток), на территории города снижается в 3,2 раза ($p \leq 0,05$). В то же время такие малочисленные для территории ББЗ виды, как желтогорлая и полевая мыши в городской среде значительно ($p \leq 0,001$) увеличивают свою относительную численность ($3,35 \pm 0,38$ экз./100 л.-суток и $2,68 \pm 0,42$ экз./100 л.-суток соответственно). Высокой численности в городской среде, особенно в центральных парках города, достигает обыкновенная полевка ($0,5 \pm 0,2$ экз./100 л.-суток).

В городской среде существует две резко отличающихся по условиям обитания и, соответственно, различные по видовому составу грызунов зоны. Это городская застройка, где фоновыми видами являются синантропы (домовая мышь, серая и черная крысы), и незастроенная зеленая часть города, которую заселяют в основном обитатели природных ландшафтов (желтогорлая, полевая, лесная мыши, рыжая, обыкновенная и экономка полевки). Установлено, что территориальное распределение различных видов грызунов в урбодиапафте носит мозаичный характер. Так, если на терри-

тории ББЗ во всех лесных формациях (исследованы основные типы – сосняки, ельники, ольшаники, дубравы, березняки) в 100 % отловов с различной степенью доминирования регистрируется рыжая полевка, в 10,7 % – лесная, в 9,09 % – желтогорлая мыши, а на открытых участках в 100 % отловов – обыкновенная полевка, то на территории города, если брать во внимание зеленую незастроенную ее часть, на 80 % исследованных участках отлавливается желтогорлая мышь, несколько реже регистрируется полевая мышь (72 %, соответственно). Лесная мышь присутствует в 35 % отловов, рыжая полевка – только в 23 %, обыкновенная полевка – в 15 %. В единичных случаях (1–3 % отловов) регистрируется полевка-экономка, а также представители синантропной группы грызунов. Данный факт свидетельствует о более высокой разнородности городского ландшафта, где значительно разнятся условия обитания, а также видовая структура сообщества грызунов на каждом отдельно взятом участке ($G=174,0$; $p < 0,001$). Помимо вариабельности видового состава, высоко значимыми ($F=6,22$; $p=0,00001$) являются колебания в показателях относительной численности грызунов на отдельно взятых городских участках по сравнению с выборками на заповедной территории. Разнородность сообщества грызунов в городской среде приводит к снижению индекса доминирования видов в городском сообществе грызунов ($C=0,22$; $M=1,48$) по сравнению с естественной территорией ($C=0,58$; $M=1,50$). Значительно различаются и показатели видового разнообразия на городской ($H=1,74$; $J=0,79$) и естественной ($H=0,83$; $J=0,34$) территориях. Таким образом, доминантом сообщества грызунов в городской среде является домовая мышь (29,4 %), субдоминантами – желтогорлая (21,7 %) и полевая мыши (17,4 %) (рисунок 1). В то время как в Березинском биосферном заповеднике, взятом для контроля, абсолютным доминантом сообщества грызунов является рыжая полевка, доля которой в отловах составляет 82 % (рисунок 1).



Рисунок 1. – Структура доминирования видов в сообществе мышевидных грызунов г. Минска (а) и территории Березинского биосферного заповедника (б)

Результаты исследований показали, что гельминтофауна мышевидных грызунов городской территории сформирована за счет обычных и широко распространенных видов в Беларуси. Исключение составляет нематода *Ganguleteralis spumosa* (Schneider, 1866), впервые нами отмеченная в республике. Анализ видового состава паразитов сравниваемых территорий отразил достаточно высокое сходство 59 %. Основные изменения в фауне на городской территории идут в двух направлениях. Во-первых, это сокращение видового богатства и численности цестод, и в особенности тех видов, в цикле развития которых грызуны являются промежуточными хозяевами, а окончательными служат хищные млекопи-

тающие и птицы (представители семейств *Taeniidae*, *Mesocestoididae*). Во-вторых, расширение видового состава и численности нематод, которые имеют прямой цикл развития (в особенности видов сем. *Heligmosomatidae* и *Syphaciidae*). Значительное увеличение видового богатства последних, в особенности высокой их численности, может свидетельствовать о более высоких адаптивных возможностях к обитанию в городских условиях именно паразитов с прямым циклом развития.

Различная степень адаптации грызунов к жизни в городской среде приводит к смене роли хозяев в формировании и поддержании численности гельминтов. Так, на территории Березинского биосферного заповедника из 8 обитающих там видов мышевидных грызунов значимая роль в формировании сообщества паразитов принадлежит только двум наиболее многочисленным хозяевам. Это рыжая и обыкновенная полевки, у которых паразитирует по 10 видов гельминтов (рисунок 2) и на долю которых приходится 84,2 % видового богатства червей данной территории. Желтогорлая, лесная мыши, а также мышь-малютка характеризуются бедной гельминтофауной (1–2 вида) и, соответственно, принимают незначительное участие в поддержании фаунистического богатства паразитов данной территории. При этом такие грызуны, как лесная соя, пашенная полевка и полевка-экономка, составляющие 37,5 % видового богатства грызунов данной территории, оказались свободными от паразитов, что говорит о крайне низкой их зараженности. На территории города Минска наблюдается совершенно иная картина. Все 9 видов мышевидных грызунов в той или иной степени принимают участие в поддержании видового богатства и численности гельминтов. Выявлено 25 видов паразитирующих гельминтов. Первостепенную роль в формировании гельминтофауны городской территории играет желтогорлая мышь, у которой зафиксировано самое высокое видовое богатство гельминтов (17 видов, 68 % от видового богатства всех паразитов). Богатая фауна гельминтов в городской среде наблю-

дается и у полевой мыши (14 видов). У данного грызуна паразитирует 56 % от видового богатства червей, зафиксированных на городской территории. Паразитофауна обыкновенной и рыжей полевки, а также серой крысы составляет по 24 % от фаунистического богатства гельминтов исследуе-

мой территории (рисунок 2). На видовое богатство черной крысы приходится 16 % городской гельминтофауны, и самый незначительный вклад – всего 4 % – вносят паразиты редкого для данной территории вида – полевки-экономки.

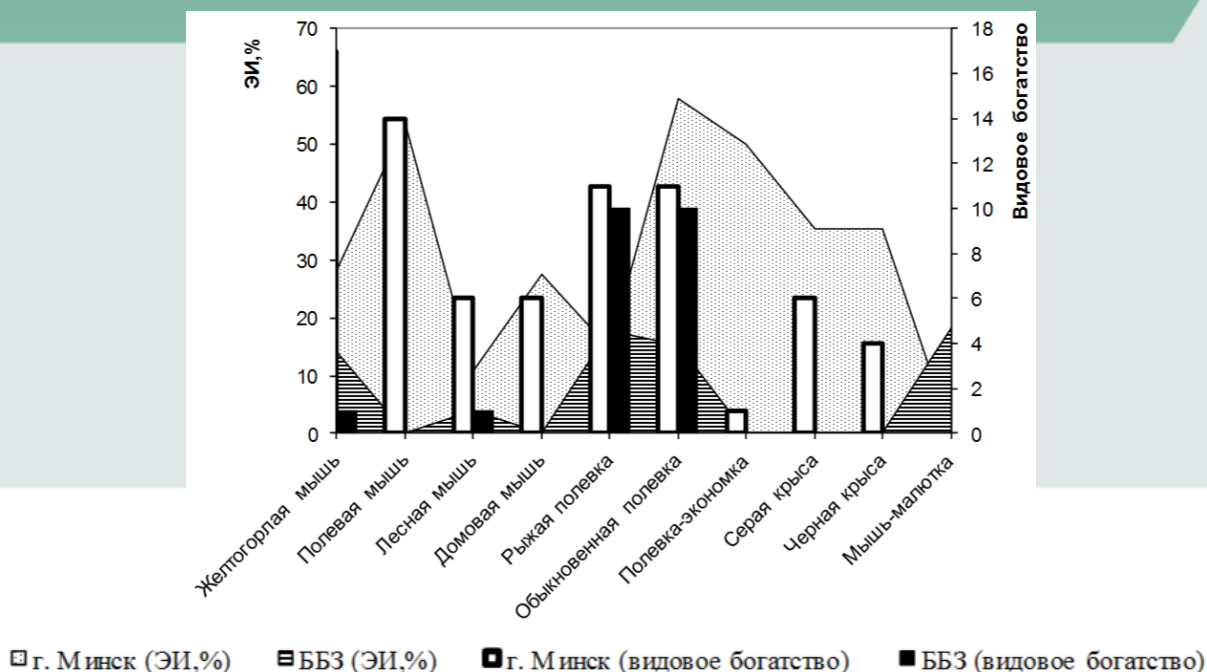


Рисунок 2. – Видовое богатство гельминтов различных видов мышевидных грызунов и степень инвазированности ими хозяев на территории г. Минска и Березинского биосферного заповедника

В количественном отношении прослеживается та же тенденция. Так, на территории Березинского биосферного заповедника 75,7 % от общего количества собранных гельминтов паразитирует у рыжей полевки и 23,7 % – у обыкновенной полевки. На долю остальных 6 видов хозяев приходится всего лишь 0,7 % собранных экземпляров гельминтов. Как указывалось выше, на городской территории все без исключения виды грызунов, даже малочисленные, играют определенную роль в формировании и поддержании количественной структуры сообщества гельминтов. Так, 42,7 % всех червей, собранных на городской территории, принадлежит полевой мыши, 31,3 % – желтогорлой мыши и 15,6 % – обыкновенной полевки. На долю паразитов остальных грызунов приходится

10,4 % от количества всех собранных паразитов.

Средняя инвазированность грызунов гельминтами в городской среде выше контроля в 2,1 раза ($p < 0,05$) и составляет 34,53 %. Значительные различия прослеживаются и в степени инвазированности отдельных видов грызунов паразитами, и как следствие, изменяется вклад хозяев в формирование сообщества паразитических червей на сравниваемых территориях. Так, самая высокая зараженность гельминтами на контрольной территории отмечается только у рыжей (ЭИ–17,79 %, ИО–1,38 экз./особь) и обыкновенной (ЭИ–15,39 %, ИО–1,58 экз./особь) полевки. Эти хозяева и вносят основной вклад в формирование как качественной, так и количественной структуры сообщества паразитов. Зараженность

же остальных видов очень низка. В городской среде круг хозяев паразитов значительно расширяется. Все отловленные виды грызунов на данной территории, даже малочисленные, регистрируемые единично (полевка-экономка), заражены червями. Как видно из рисунка 2, инвазированность всех без исключения видов мышевидных грызунов на городской территории выше, чем на контрольной территории. При этом степень зараженности некоторых хозяев паразитами, а также интенсивность инвазии гельминтами достигает высоких значений. Это обыкновенная полевка (ЭИ–57,94 %; ИО–16,95 экз./особь), полевая (ЭИ–53,58 %; ИО–11,56 экз./особь) и желтогорлая (ЭИ–27,98 %; ИО–6,69 экз./особь) мыши (рисунок 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, кардинальные изменения условий обитания на городской территории в сравнении с естественными условиями ведут к перестройкам в сообществе мышевидных грызунов. Фауна как мышевидных грызунов (за исключением груп-

пы синантропов), так и их паразитов на городской территории формируется за счет местных, широко распространенных видов. Урбанизация приводит к расширению видового богатства и численности видов, наиболее адаптированных к новым, изменившимся условиям обитания. Со стороны грызунов это появление и главенствующая роль в зоне городской застройки группы синантропов (домовая мышь, серая и черная крысы), а также замещение фоновых для естественных условий обитания видов грызунов (рыжей полевки), избегающих города, на группу гемисинантропных видов (полевая и желтогорлая мыши, обыкновенная полевка). Пространственная ограниченность, мозаичность урболандшафта, хорошая кормовая база и низкий пресс хищников приводят к увеличению плотности популяции грызунов в городских условиях обитания. Это в свою очередь является одной из основных причин значительного роста степени инвазированности грызунов гельминтами, в особенности видами с прямым циклом развития.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генов, Т. Хелминти на насекомоядните бозайници и гризачите в България / Т. Генов. – София: Болгарская академия наук, 1984. – 300 с.
2. Громов, И.М. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий (зайцеобразные и грызуны) / И.М. Громов, М.А. Ербаева. – СПб.: ЗИН РАН. – 1995. – 250 с.
3. Ивашкин, В.М. Методы сбора и изучения гельминтов наземных млекопитающих / В.М. Ивашкин, В.Л. Контримавичус, Н.С. Назарова. – М.: Наука, 1971. – 123 с.
4. Карасева, Е.В. Методы изучения грызунов в полевых условиях / Е.В. Карасева, А.Ю. Телицына, О.А. Жигальский. – М.: ЛКИ, 2008. – 416 с.
5. Кучерук, В.В. Новое в методике количественного учета вредных грызунов и землероек / В.В. Кучерук // Организация и методика учета птиц и вредных грызунов / В.В. Кучерук, – М., 1963. – С. 159–183.
6. Кучерук, В.В. Грызуны – обитатели построек человека и населенных пунктов различных регионов СССР / В.В. Кучерук // Общая и региональная териогеография: сб. науч. тр.; под ред. А.Г. Воронова. – М.: Наука, 1988. – С. 165–238.
7. Определитель гельминтов грызунов фауны СССР: в 2 т. / Рыжиков, К.М. [и др.]; под ред. К.М. Рыжикова. – М.: Наука, 1978. – Т. 1. – Нематоды и акантоцефалы. – 279 с.
8. Определитель гельминтов грызунов фауны СССР: в 2 т. / Рыжиков, К.М. [и др.]; под ред. К.М. Рыжикова. – М.: Наука, 1978. – Т. 2. – Цестоды и трематоды. – 232 с.
9. Тихонова, Г.Н. Распределение мелких млекопитающих и типизация незастроенных территорий г. Москвы / Г.Н. Тихонова [и др.] // Успехи современной биологии. – 1997. – Т. 117. Вып. 2. – С. 218–239.

ХОЧЕНКОВ А.А., доктор сельскохозяйственных наук, доцент

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

НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ ОТКОРМОЧНОГО МОЛОДНЯКА СВИНЕЙ В УСЛОВИЯХ ПРОМЫШЛЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ

Резюме

В результате проведенных исследований установлено неблагоприятное воздействие промышленной технологии производства на показатели метаболизма откормочного молодняка свиней. Отклонения от нормативов содержания микроэлементов в крови (медь, цинк) более характерны для второго периода откорма, чем для первого (100 % и 50 %, соответственно, против 40 % и 10 %). Содержание неорганического фосфора, гормона щитовидной железы Т4, тиреотропного гормона во всех отобранных образцах крови свиней не соответствовало нормам.

Summary

As a result of the conducted studies, the adverse effect of industrial production technology on the metabolism of the fattening young pigs was found. Deviations from the norms for the content of trace elements in the blood (copper, zinc) are more characteristic for the second fattening period than for the first period (100 % and 50 %, respectively, against 40 % and 10 %). The content of inorganic phosphorus, the hormone of the thyroid gland T4, the thyroid-stimulating hormone in all selected swine blood samples did not comply with the norms.

Поступила в редакцию 12.10.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Перевод свиноводства на промышленную основу является одним из действенных путей повышения эффективности отрасли. Однако препятствием на этом пути являются многочисленные заболевания различного генеза, являющиеся следствием недостатков, присущих индустриальному животноводству (гиподинамия, высокая концентрация скота, стрессы и пр.) [1, 2, 3, 4, 5]. В последние годы проявляется негативный фактор, все в большей степени влияющий в целом на производство свинины, возрастающая контаминация кормовых средств микотоксинами, токсическими метаболитами плесневых грибов. Наиболее часто усиленное продуцирование синтеза микотоксинов происходит в условиях стрессов растений, таких как изменение температуры, влажности или аэрации, что характерно для природно-климатических условий нашей страны. Поэтому профилактику микотоксикозов необходимо учитывать при разработке всех технологий в свиноводстве [8]. Для

определения степени воздействия на организм животных различных биологически активных веществ, технологических приемов необходимо изучение показателей метаболизма организма свиней: белковый, липидный, минеральный обмены, ферментная активность, гормональные профили, содержание витаминов [6, 7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Откормочный молодняк свиней в первый период откорма потреблял комбикорм рецепта СК-26, а во второй период – СК-31. Комбикорма были выработаны согласно технологическому регламенту и соответствовали СТБ 2111-2010 Комбикорма для свиней. Общие технические условия. Определение метаболического профиля проводилось на откормочном молодняке свиней первого и второго периодов на комплексе ОАО «Юбилейный» Витебской области в 2012 году. С этой целью в летний период года у 10 голов молодняка первого и 10 – второго периодов откорма бы-

ли взяты образцы крови и отправлены на исследование в НИИ прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО «ВГАВМ». Анализы были проведены по общепринятым методикам с использованием современного оборудования.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для оценки состояния белкового об-

мена, а также функций отдельных органов проводят определение в сыворотке крови общего белка и его фракций, мочевины, креатинина. Согласно нашим исследованиям (таблица 1), содержание общего белка у животных первого и второго периода откорма не отклонялось от биохимических нормативов.

Таблица 1. – Показатели белкового обмена

Показатель	Среднее значение	Лимиты	Коэффициент вариации, %	% отклонений от нормы
Первый период откорма (живая масса 60 кг)				
Общий белок, г/л	73,8±3,26	65,0–86,1	10,6	0
Альбумины, г/л	34,3±1,59	27,5–38,7	11,1	10
Глобулины, г/л	39,5±2,64	29,9–48,1	16,0	10
Мочевина, ммоль/л	6,6±0,43	5,17–8,64	15,7	0
Креатинин, мкмоль/л	128,0±10,89	97,2–171,1	20,4	0
Второй период откорма (живая масса 100 кг)				
Общий белок, г/л	72,9±1,44	67,9–77,8	4,8	0
Альбумины, г/л	36,2±1,50	30,7–39,8	9,9	0
Глобулины, г/л	36,7±1,34	31,9–41,4	8,7	0
Мочевина, ммоль/л	6,9±0,64	4,9–9,4	22,3	10
Креатинин, мкмоль/л	143,2±10,92	118,1–192,4	18,3	0

В младшей возрастной группе часть животных (10 %) имела отклонения по альбуминам и глобулинам крови. Альбумины образуются в печеночных клетках, глобулины – в клетках ретикуло-эндотелеальной системы костного мозга и ретикулоэндотелеальных клетках печени. Поэтому содержание сывороточных белков в значительной степени зависит от состояния печени. При поражении печени зачастую снижается синтез альбуминов, увеличивается образование глобулинов. Косвенным подтверждением неблагополучия состояния печени можно считать высокие цифры альбумино-глобулинового коэффициента, особенно у свиней второго периода откорма.

Важным биохимическим показателем является мочевина крови. Повышение содержания мочевины в крови отмечается при поражении выделительной системы почек, а понижение – при длительном бел-

ковом недокорме. Повышение содержания в крови креатинина, предшественниками которого является ряд аминокислот, наблюдается при почечных патологиях. Согласно нашим исследованиям, этот показатель у особей первого и второго периодов откорма находился в пределах биохимической нормы.

Процесс образования липидов в организме состоит из расщепления липидов пищи в кишечнике до глицерина и жирных кислот, которые всасываются в кровь и переносятся ко всем клеткам, где из этих компонентов синтезируются необходимые организму липиды. В сыворотке крови определяли триглицериды, холестерин и связанный с ними пигмент билирубин. Согласно нашим исследованиям (таблица 2), наиболее проблемными показателями липидного обмена являются холестерин и билирубин.

Таблица 2. – Показатели липидного обмена

Показатель	Среднее значение	Лимиты	Коэффициент вариации, %	% отклонений от нормы
Первый период откорма (живая масса 60 кг)				
Триглицериды, ммоль/л	0,62±0,084	0,39–0,94	32,5	0
Холестерин, ммоль/л	3,02±0,201	2,64–3,85	16,0	10
Билирубин, мкмоль/л	14,6±1,62	8,0–19,0	26,6	80
Второй период откорма (живая масса 100 кг)				
Триглицериды, ммоль/л	0,68±0,049	0,46–0,80	17,1	0
Холестерин, ммоль/л	3,13±0,112	2,71–3,54	8,6	80
Билирубин, мкмоль/л	9,6±1,46	5,1–13,9	36,6	20

Содержание холестерина может увеличиваться при гипофункции щитовидной железы, а также при скармливании рационов, обогащенных жирами. Поскольку нормативы энергонасыщенности комбикормов во многом повышаются за счет липидной фракции кормовых средств, а гипофункция щитовидной железы характерна для высокопродуктивных современных генотипов, то данные анализа объяснимы. Другим важным фактором, влияющим на деятельность щитовидной железы, являются антипитательные вещества – изотиоцианаты, содержащиеся в рапсовом шроте, постоянном компоненте комбикормов для откормочного молодняка свиней. Конечно, содержание антипитательных веществ, в том числе изотиоцианатов, находится под контролем и не превышает допустимого уровня. Однако вполне вероятно, что в данном случае наблюдается потенцирующий эффект, когда наряду с одним отрицательным фактором на организм животного действуют и иные, что способно в значительной степени нарушить метаболизм организма животных.

Билирубин – желчный пигмент, который образуется в клетках ретикулоэндотелиальной системы печени и селезенки при распаде гемоглобина, миоглобина, цитохромов. Повышение его содержания в сыворотке крови отмечается при патологиях печени, в том числе кормового генеза. Учитывая значительную загрязненность рационов микотоксинами (в первую очередь ДОН), можно оценить функционирование орга-

низма животных на грани патологии, что требует проведения соответствующих мероприятий как ветеринарного, так и зоотехнического характера.

Наиболее проблемными показателями липидного обмена являются холестерин и билирубин. В первый период откорма 80 % образцов крови не соответствовали нормативам по билирубину, а во второй период – 80 % по холестерину.

В целях более глубокого изучения процессов метаболизма в организме откормочного молодняка в практике используют определение активности ряда ферментов. Наиболее часто определяют активности щелочной фосфатазы (ЩФ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), гамма-глутаматдегидрогеназы (ГГТ). Согласно нашим исследованиям (таблица 3), у большинства особей подопытных групп активность вышеуказанных трансфераз, за исключением щелочной фосфатазы, была выше нормативов. Обычно при поражениях печени повышается активность как АСТ, так и АЛТ. Активность ГГТ также повышается при болезнях печени. Следовательно, необходима соответствующая коррекция гигиенического состояния рационов с целью снижения токсической нагрузки на печеночную систему.

Необходимо отметить, что с возрастом активность ГГТ значительно снижается (с 61,1 до 47,7 ед.), что указывает на включение дополнительных детоксификационных механизмов на уровне всего организма.

Таблица 3. – Показатели ферментной активности (трансферазы)

Показатель	Среднее значение	Лимиты	Коэффициент вариации, %
Первый период откорма (живая масса 60 кг)			
ЩФ, ед.	130,1±17,11	86,2–177,9	31,5
АСТ, ед.	92,4±15,26	43,8–134,5	39,7
АЛТ, ед.	104,2±13,8	61,2–142,1	31,7
ГГТ, ед.	61,1±2,10	55,4–71,3	8,2
Второй период откорма (живая масса 100 кг)			
ЩФ, ед.	105,3±11,07	75,6–135,0	25,2
АСТ, ед.	52,0±2,40	44,9–60,8	11,1
АЛТ, ед.	76,5±7,37	53,2–100,5	23,1
ГГТ, ед.	47,7±2,14	41,1–55,9	10,8

На протяжении всего периода выращивания и откорма содержание макро- и микроэлементов в рационах достаточно жестко нормируется. Если кальций, фосфор, магний и железо в основном поступают из зерновых и протеиновых компонентов комбикормов, то медь и цинк – из премиксов. Причем содержание этих элементов питания в рационе должно удовлетворять потребности животных. Согласно нашим исследованиям (таблица 4), содержание фосфора у всех животных подопытных групп как первого, так и второго периодов откорма было ниже физиологической

нормы. По остальным минералам имеется определенная тенденция к ухудшению показателей с возрастом. Так, если в первый период откорма у 10 % выборки были отклонения по магнию, то во второй период – у 80 %, по меди 40 % и 100 %, по цинку – 10 % и 50 % соответственно. По нашему мнению, в данном случае действуют определенные негативные факторы (стрессы, заболевания различного происхождения, новые более чувствительные генотипы), ухудшающие жизнеспособность животных и их возможность адсорбировать из рациона ряд минералов.

Таблица 4. – Содержание макро- и микроэлементов

Показатель	Среднее значение	Лимиты	Коэффициент вариации, %	% отклонений от нормы
Первый период откорма (живая масса 60 кг)				
Общий кальций, ммоль/л	2,49±0,118	2,16–2,86	11,3	60
Неорганический фосфор, ммоль/л	3,08±0,15	2,55–3,73	11,7	100
Магний, ммоль/л	1,24±0,093	0,95–1,55	17,8	10
Железо, мкмоль/л	33,34±1,537	27,93–8,92	11,1	0
Медь, мкг/л	1490±116,4	1054–1789	18,8	40
Цинк, мкг/л	3,89±0,175	3,29–4,61	10,8	10
Второй период откорма (живая масса 100 кг)				
Общий кальций, ммоль/л	2,69±0,163	2,23–3,34	14,5	30
Неорганический фосфор, ммоль/л	2,86±0,126	2,39–3,14	10,6	100
Магний, ммоль/л	0,95±0,07	0,62–1,21	18,8	80
Железо, мкмоль/л	34,82±1,533	30,22–0,71	10,6	10
Медь, мкг/л	1031±131,2	634–1484	30,5	100
Цинк, мкг/л	3,37±0,181	2,84–3,84	12,8	50

Для контроля обеспеченности поголовья витаминами в условиях промышленного свиноводства анализируются не только непосредственно сами рационы, но определяется содержание витаминов в крови, а в ряде случаев дополнительно и в печени.

Из витаминов и витаминоподобных соединений на практике наиболее актуален контроль жирорастворимых витаминов А и Е в сыворотке крови. Ранними признаками А-витаминовой недостаточности у откормочного молодняка свиней является его снижение в сыворотке крови до уровня 0,13 мкг/мл и ниже. Необходимо отметить, что эти показатели у животных как пер-

вого, так и второго периода откорма находились на нижней границе нормы (таблица 5).

Значительно ниже на уровне организма обеспеченность витамином Е. В оба периода откорма показатели абсолютного большинства обеих возрастных групп (80 %) не соответствовали нормативу. Поскольку обеспеченность токоферолом обуславливается не только его содержанием в рационе, но и гигиеническими характеристиками кормов, то очевидно, что повышение качества рационов является наиболее эффективным путем оптимизации витаминного баланса организма.

Таблица 5. – Концентрация витаминов А и Е, мкг/мл

Показатель	Среднее значение	Лимиты	Коэффициент вариации, %	% отклонений от нормы
Первый период откорма (живая масса 60 кг)				
витамин А,	0,25±0,020	0,17–0,31	19,2	0
витамин Е,	1,27±0,31	1,19–1,39	6,0	80
Второй период откорма (живая масса 100 кг)				
витамин А,	0,18±0,018	0,13–0,25	24,0	0
витамин Е	1,09±0,111	0,73–1,40	24,6	80

Гормональный фон организма животных во многом определяет как интенсивность роста, так и качественные параметры мясopодуkтов. На основании ряда исследований отечественных и зарубежных ученых можно сделать вывод, что многочисленные проявления синдромов пороков качества мяса (PSE и DFD) зачастую определяются не только генотипом, но и активностью щитовидной железы. В рамках наших исследований выявлялись тиреотропный гормон (ТТГ) и гормон щитовидной железы Т4 (таблица 6). Тиреоидный гормон Т4 синтезируется в фолликулярных клетках щито-

видной железы путем присоединения йода к остаткам молекул аминокислоты тирозина, входящего в состав белка – тиреоглобулина. В настоящее время наблюдается тенденция к определению содержания Т4 как одного из основных маркеров функционального состояния щитовидной железы. Разработаны и другие методы контроля функции этого органа внутренней секреции, в частности гистологические, но они значительно более трудоемки. Поэтому наиболее практичным является непосредственное определение гормона Т4 в крови.

Таблица 6. – Содержание гормонов (ТТГ и Т4), ммоль/л

Показатель	Среднее значение	Лимиты	Коэффициент вариации, %	% отклонений от нормы
Первый период откорма (живая масса 60 кг)				
ТТГ	0,68±0,108	0,23–0,91	38,0	100
Т4	4,68±0,132	4,3–4,97	6,8	100
Второй период откорма (живая масса 100 кг)				
ТТГ	0,79±0,073	0,53–0,96	22,2	100
Т4	4,43±0,057	4,33–4,68	3,1	100

Гормональный фон у поголовья обеих возрастных групп находился ниже нормы и составлял 52,7–96,5 % от нижней границы нормы ТТГ и 86,6–99,4 % нижней нормы Т4.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований установлено отрицательное воздействие промышлен-

ной технологии производства на показатели метаболизма откормочного молодняка свиней. Наиболее распространены нарушения фосфорного обмена, в сыворотке крови понижена концентрация гормона щитовидной железы Т4, гипопифиза ТТГ, а также витамина Е.

ЛИТЕРАТУРА

1. Курдеко, А.П. Биохимический контроль состояния здоровья свиней: рекомендации / А.П. Курдеко [и др.]. – Горки: БГСХА, 2013. – 48 с.
2. Ветеринарно-санитарные мероприятия для селекционно-гибридных центров и комплексов по производству свинины. – Мн.: ПЧУП «Бизнесофсет», 2003. – 35 с.
3. Голосов, И.М. Гигиена содержания свиней на фермах и комплексах / И.М. Голосов, А.Ф. Кузнецов, Р.С. Гольдинштейн. – Л.: Колос, 1982 – 216 с.
4. Димов, Б.И. Секреты высокой сохранности поголовья / Б.И. Димов // Промышленное и племенное свиноводство. – 2004. – № 3. – С. 41.
5. Острикова, Э.Е. Влияние различных препаратов на строение печени свиней / Э.Е. Острикова // Свиноводство. – 2012. – № 1. – С.60–61.
6. Справочник по контролю кормления и содержания животных / В.А. Аликаев, Е.А. Петухова, Л.Д. Халенева – М.: Колос, 1982. – 320 с.
7. Уразаев, Н.А. Биоценоз и патология сельскохозяйственных животных / Н.А. Уразаев, Г.П. Новошинов, В.Н. Локтионов. – М.: Агрпромпиздат, 1985. – 175 с.
8. Хоченков, А.А. Гигиена кормов в свиноводстве: монография / А.А. Хоченков. – Жодино: РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству», 2011. – 172 с.

УДК 576.895.1:599.323

Шендрик Т.В., кандидат биологических наук

ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», г. Минск

СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ЧИСЛЕННОСТИ ГЕЛЬМИНТОВ И ИХ ХОЗЯЕВ, МЫШЕВИДНЫХ ГРЫЗУНОВ, НА ТЕРРИТОРИИ ГОРОДА МИНСКА

Резюме

Проведен анализ сезонной динамики численности *Apodemus (Sylvaemus) flavicollis* (Melchior, 1834) на незастроенных участках города Минска. Установлены основные закономерности динамики численности гельминтов *Ap. (Sylvaemus) flavicollis* в различные сезоны года на городской территории. Выявлены различия в зараженности *Ap. (Sylvaemus) flavicollis* гельминтами на естественной и урбанизированной территориях.

Summary

The analysis of seasonal dynamics of *Apodemus (Sylvaemus) flavicollis* (Melchior, 1834) population in the undeveloped areas of the city of Minsk was carried out. The main regularities of the dynamics of the number of helminths of *Ap. (Sylvaemus) flavicollis* in different seasons of the year in urban areas are established. Differences in helminths invasion of *Ap. (Sylvaemus) flavicollis* in the natural and urbanized areas were revealed.

Поступила в редакцию 10.10.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Сезонные колебания численности эндопаразитов, не имеющих непосредственной связи с внешней средой, представляют

собой сложные и комплексные явления, определяемые множеством абиотических и биотических факторов среды. Среди них большое значение имеют климатические

условия, в первую очередь температура. С сезонными климатическими колебаниями тесно связаны изменения характера питания и образа жизни хозяев, которые обуславливают вероятность и степень заражения их паразитами. Для видов гельминтов, развивающихся со сменой хозяев, перво-степенное значение приобретает численность промежуточных или окончательных хозяев в различные сезоны года. А для паразитов с прямым жизненным циклом определяющими становятся абиотические факторы (температура, влажность и др.).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Динамика численности мышевидных грызунов и их паразитов изучалась на территории лесопарковой части Центрального ботанического сада, расположенного в центральной части города Минска, в весенне-летне-осенний период в течение 6 лет. В качестве модельного вида выбрана желтогорлая мышь – широко распространенный вид грызунов на незастроенных городских участках. Мышевидные грызуны на исследуемой территории отлавливались методом ловушко-линий бестрапиковыми плашками «Геро» [4]. За период исследований на городской территории отловлено 340 экземпляров желтогорлых мышей – *Apodemus (Sylvaemus) flavicollis* (Melchior, 1834). У них зарегистрировано 1964 экземпляра паразитических червей 15 видов: *Aprostotandrya macrocephala* (Douthitt, 1915), *Catenotaenia cricetorum* Kirschenblatt, 1949, *Catenotaenia pusilla* (Goeze, 1782), *Skrjabinotaenia lobata* (Baer, 1925), *Hymenolepis diminuta* (Rudolphi, 1819), *Hymenolepis horrida* (Linstow, 1901), *Rodentolepis straminea* (Goeze, 1782), *Ganguleteralis spumosa* (Schneider, 1866), *Heligmosomoides glareoli* (Baylis, 1928), *Heligmosomoides laevis* (Dujardin, 1845), *Heligmosomoides polygyrus* (Dujardin, 1845), *Heligmosomum costellatum* (Dujardin, 1845), *Heligmosomum mixtum* (Schulz, 1952), *Syphacia frederici* (Roman, 1945), *Syphacia montana* (Yamaguti, 1943). Видовая принадлежность мышевидных грызунов выявлена с помощью определителя млекопитающих фауны России и сопредельных территорий [2].

Гельминтологическое обследование грызунов, изготовление временных и постоянных препаратов и окраска гельминтов проводилось по общепринятой методике [3]. Видовое определение паразитических червей проводилось с помощью определителей [1, 5, 6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В течение исследуемого периода времени на территории лесопарковой части Центрального ботанического сада зарегистрировано наличие 9 видов мышевидных грызунов: желтогорлая, полевая, лесная и домовая мыши, обыкновенная, рыжая полевка, полевка-экономка, а также серая и черная крысы. Средний показатель плотности грызунов составил 8,38 экз./100 л.-суток; ($\sigma=5,22$). В лесопарковой части Центрального ботанического сада желтогорлая мышь является доминантным видом грызунов и составила 65 % численности всех отлавливаемых зверьков. У желтогорлой мыши паразитирует 77,0 % видового богатства и 55,6 % численности всех регистрируемых на данной территории паразитов. В условиях городской среды сезонная динамика численности, а также особенности размножения желтогорлой мыши не изучались. Исследования, проведенные в естественных условиях Беларуси, показали, что в течение весенне-летнего периода желтогорлая мышь дает 3 помета [8]. Первый помёт появляется в конце марта или в начале апреля, второй – в начале июля, третий – в августе. В лесопарковой части Центрального ботанического сада средний показатель плотности популяции желтогорлой мыши составляет $4,55 \pm 0,72$ экз./100 л.-суток и претерпевает значительные изменения в течение сезона размножения. Так, минимальные его значения фиксируются в весеннее время года ($2,42 \pm 0,57$ экз./100 л.-суток), летом средний показатель относительной численности желтогорлых мышей достигает $5,42 \pm 0,95$ экз./100 л.-суток и осенью – $5,99 \pm 2,1$ экз./100 л.-суток (рисунок 1). В течение исследуемого промежутка времени плотность желтогорлых мышей на территории Цен-

трального Ботанического сада возрастает в 2,48 раза, что связано с активным размножением грызунов. При этом статистически значимым является увеличение численности грызунов в весенне-летний период ($t=2,47$; $p=0,03$). Плотность популяции желтогорлой мыши в летне-осенний период продолжает расти, данное увеличение численности статистически не значимо ($t=0,29$; $p=0,78$). Сравнительный анализ многолетних показателей сезонной численности

желтогорлых мышей показал высокую вариабельность. За 6-летний период исследований весенняя численность мышей колебалась от 0,7 до 4,3 экз./100 л.-суток ($\sigma=1,5$). Показатель относительной численности мышей в летнее время на данной территории принимал значения от 1,4 до 10,7 экз./л.-суток ($\sigma=2,8$). В самых широких пределах колебался осенний показатель плотности популяции желтогорлой мыши (0,9–13,0 экз./л.-суток) ($\sigma=4,7$) (рисунок 1).

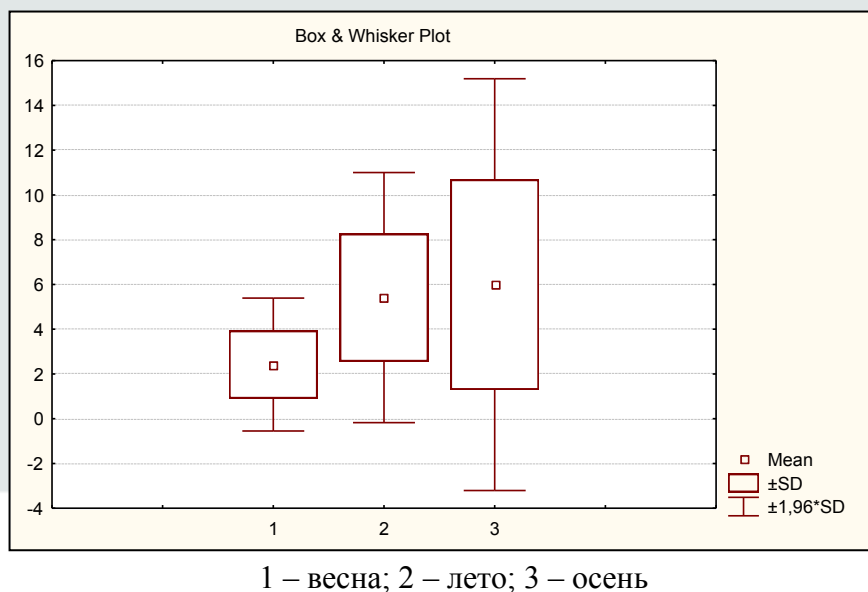


Рисунок 1. – Изменение показателей плотности популяции желтогорлой мыши на территории Центрального Ботанического сада г. Минска в зависимости от сезона года

На территории Центрального ботанического сада у желтогорлых мышей обнаружено 15 видов паразитических червей. Из них 7 видов относятся к классу *Cestoda*, и 8 – к *Nematoda*. Максимальное видовое богатство гельминтов у желтогорлой мыши регистрируется в летний период времени (12 видов), самое низкое – весной (9 видов), осенью – 10 видов гельминтов. Фауна паразитов, зарегистрированных у желтогорлых мышей в различные сезоны года, показала высокое сходство (от 67 % до 82 %), что говорит об отсутствии четко выраженной сезонной ее специфики. Самые высокие значения показателя фаунистического сходства регистрируются между паразитами летней и осенней выборок ($Ks=0,82$). При этом фаунистический комплекс цестод является более постоянным – 57,1 % видов

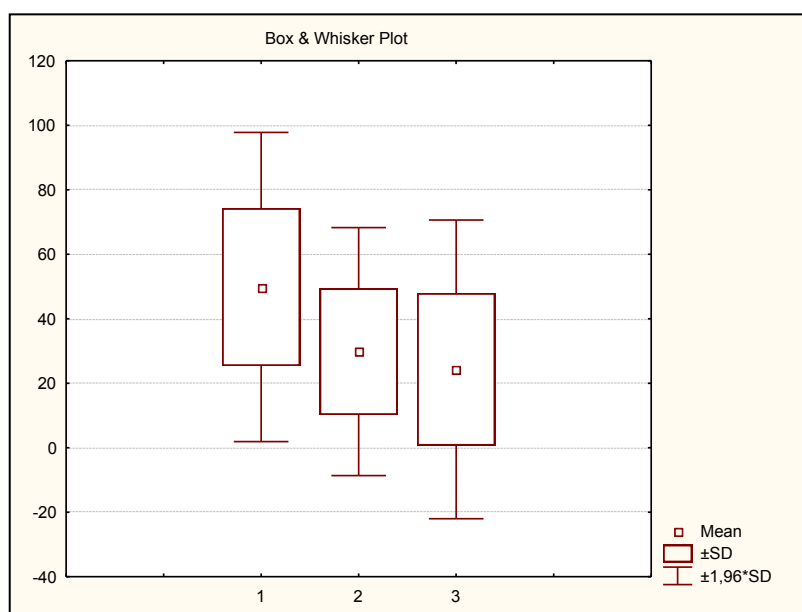
регистрируется в течение всего года. Фауна нематод подвержена большим изменениям. Только 37,5 % видового богатства круглых червей регистрируются у желтогорлой мыши в течение исследуемого периода времени.

Видовая структура сообщества гельминтов желтогорлой мыши в течение сезона года претерпевает незначительные изменения. Группу наиболее часто регистрируемых паразитов данного хозяина составляют 5 видов паразитов. Это *H. polygyrus*, *S. frederici*, *S. lobata*, *H. laevis* и *H. horrida*. Зараженность мышей данными видами червей в течение года колеблется от 4,5 до 14,7 %. Доминантом сообщества паразитов на протяжении всего периода исследования является нематода *H. polygyrus*. Весной и осенью показатели встречаемости ее

у грызунов практически равнозначны (ЭИ–7,97–8,5), максимум зараженности мышей данным видом регистрируются в летние месяцы (ЭИ–14,17) при ($\chi^2=2,94$; $p=0,08$). На протяжении года с высокой экстенсивностью инвазии у мышей регистрируется нематода *S. frederici*, которая занимает место субдоминанта сообщества паразитов в течение всего исследуемого промежутка времени. Зараженность мышей данным видом в течение весенне-летнего периода снижается к осени ($\chi^2=1,28$; $p=0,5$). Цестода *S. lobata*, входящая в состав субдоминантов в весенней выборке червей (ЭИ–6,78), к осени снижает показатели зараженности и переходит в группу малочисленных видов (ЭИ–1,49) ($p\leq 0,05$). Та же тенденция отмечена и для нематоды *H. laevis*, зараженность которой в период с весны до осени падает в 3,4 раза ($p\leq 0,05$). Показатель экстенсивности инвазии цестоды *H. horrida*, наоборот, незначительно увеличивается с весны до осени ($p>0,05$), что позволяет перейти данному виду паразитов из группы малочисленных видов в субдоминанты осеннего сообщества гельминтов. Незначительные изменения в показателях зараженности произошли также на уровне малочисленных и редких видов. Так, паразиты жел-

тогорлой мыши – *C. pusilla* и *R. straminea* регистрируются у данного хозяина только в весенних сборах. Наоборот, цестода *H. diminuta* отмечается у мышей с лета, а к осени регистрируется у 2,99 % желтогорлых мышей. Однако малочисленность и редкость данных паразитов не позволяет говорить о каких-либо закономерностях в изменении их численности у желтогорлых мышей в течение года.

Анализ многолетних данных показал, что на исследуемой территории максимальная зараженность желтогорлых мышей гельминтами регистрируется в весеннее время ($x-49,85\pm 12,23$; $\sigma-24,46$) (рисунок 2). Летом средний показатель экстенсивности инвазии грызунов падает до $29,82\pm 6,54$ % ($\sigma-19,62$) и осенью $24,31\pm 10,57$ % ($\sigma-23,63$) отловленных особей желтогорлых мышей заражены паразитами (рисунок 2). В период с весны до осени экстенсивность инвазии гельминтами желтогорлых мышей достоверно снижается ($p\leq 0,05$). Изменение относительной численности червей, обнаруженных у желтогорлых мышей в течение года на исследуемой территории, носит иной характер. В период с весны до лета индекс обилия червей остается практически на одном уровне ($p>0,05$).



1 – весна; 2 – лето; 3 – осень

Рисунок 2. – Изменение показателей зараженности желтогорлой мыши гельминтами на территории Центрального ботанического сада г. Минска в зависимости от сезона года

К осени данный показатель увеличивается в 2,1 раза и достигает максимального значения (ИО–10,2). Такая тенденция в изменениях основных показателей зараженности паразитическими червями мышей в течение года обусловлена возрастным составом популяции хозяев, а также особенностями динамики численности паразитов, имеющих различные типы жизненного цикла.

На территории Беларуси (Лунинецкий район) в естественных условиях обитания сезонные изменения основных показателей зараженности желтогорлых мышей гельминтами изучала И.В. Меркушева [7].

По полученным ею данным, пик зараженности желтогорлой мыши гельминтами приходится на весеннее время года (ЭИ–61,8), летом данный показатель падает до 29,0 % ($p=0,04$), а к осени происходит его незначительное увеличение (ЭИ–40,6) ($p>0,05$). Данные И.В. Меркушевой указывают на то, что на исследуемой территории желтогорлая мышь является хозяином 13 видов гельминтов (1 вид трематод, 6 видов цестод и 6 – нематод). При этом абсолютным доминантом сообщества паразитов данного хозяина является цестода *S. lobata* (ЭИ–27,6) [7].

Степень зараженности желтогорлой мыши этой цестодой в течение сезона года изменяется следующим образом. Весной наблюдается пик ее встречаемости (ЭИ–58,5), летом зараженность ею резко падает (ЭИ–15,8) (при $p\leq 0,05$), а осенью вновь наблюдается увеличение данного показателя до 30,4 % (при $p\leq 0,05$). Максимальная зараженность мышей нематодой *S. stroma* отмечена для весенних сборов (19,1 %). Практически на таком же уровне она регистрируется и осенью (17,9 %). В летний период времени она встречается у 9,2 % обследованных особей ($p\leq 0,05$).

Крайне низкая численность остальных паразитов мышей не вносят существенного вклада в показатели зараженности мышей гельминтами. В результате наблюдаемый ход сезонных изменений в зараженности желтогорлых мышей гельминтами определяется изменением встре-

чаемости у данного хозяина его основного паразита – цестоды *S. lobata*. В свою очередь, сезонная динамика численности данного биогельминта определяется сезонной динамикой численности тироглифоидных клещей – промежуточных хозяев этих цестод [9]. Так, на территории Беларуси максимум численности гнездово-норовых паразитов – промежуточных хозяев исследуемых паразитических цестод в гнездах мышей – наблюдается в весеннее время года. Второй, уступающий по значимости всплеск их численности фиксируется осенью [9]. Таким образом, пик численности тироглифоидных клещей совпадает с ростом экстенсивности и интенсивности инвазии данными паразитами мышей в весеннее и осеннее время года.

Результаты собственных исследований показали, что на территории города у желтогорлой мыши также паразитирует цестода *S. lobata*. Но, в отличие от природных территорий, степень зараженности ею мышей снижается в 14,3 раза ($p\leq 0,01$). Как показал сравнительный анализ данных, тренд сезонных изменений встречаемости цестоды *S. lobata* в популяции желтогорлой мыши на территории г. Минска согласуется с данными, полученными И.В. Меркушевой для естественных условий обитания данного хозяина. Пик зараженности грызунов *S. lobata* регистрируется весной (ЭИ–5,97), летом происходит резкий спад ($p\leq 0,05$), а осенью наблюдается незначительный подъем ($p>0,05$).

Однако, в отличие от естественных условий обитания, цестода *S. lobata* на территории города входит в состав малочисленных видов гельминтов, и поэтому колебания ее численности не определяют общей динамики зараженности желтогорлой мыши паразитическими червями, как это наблюдается в природных биоценозах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на исследуемой территории плотность популяции желтогорлой мыши в период с весны до осени возрастает в 2,5 раза. При этом наиболее выраженным является увеличение численно-

сти мышей в весенне-летний период ($t=2,47$; $p=0,03$), что обусловлено активным размножением грызунов именно в это время года. Максимальная зараженность желтогорлой мыши гельминтами отмечается весной и достигает 49,85 %. В течение последующего времени встречаемость паразитов у мышей падает ($p \leq 0,05$). Показатель относительной численности паразитов, наоборот, с весны до осени возрастает в 2,1 раза ($p \leq 0,05$) и достигает максимального значения (ИО–10,2). Сезонные изменения в показателях зараженности мышей гельминтами в течение исследуемого периода года в первую очередь обусловлена возрастным составом популяции хозяев. Так, основу весенней выборки мышей составляют взрослые перезимовавшие особи (до 80 %), в высокой степени инвазированные паразитами (ЭИ–62,9). В дальнейшем происходит увеличение доли в популяции ювенильных мышей (до 60 %) с низкой степенью зараженности червями (ЭИ–5–20). В течение лета особи взрослеют, параллельно накапливают у себя паразитов, и к осени наблюдается рост как экстенсивности инвазии желтогорлой мыши, так и относительной численности ее паразитов.

При этом если в осенней выборке грызунов первостепенное значение имеют биогельминты (66,67 % видового богатства;

ЭИ–25; ИО–2,1), то в летний период времени они уступают свое место геогельминтам, которые и достигают высокой численности у грызунов в осенний период времени (80,7 % видового богатства; ЭИ–32; ИО–7,1).

Установлено, что особенности в сезонных изменениях зараженности желтогорлой мыши гельминтами на урбанизированной и естественной территориях обусловлены в первую очередь различиями в видовом составе и численности биологических групп паразитов. Так, если в естественных условиях обитания основным паразитом желтогорлой мыши является биогельминт – цестода *S. lobata*, сезонные колебания численности которой и определяют общий тренд зараженности гельминтами, то в городской среде обитания численность данного вида, да и всех других биогельминтов, в целом значительно снижается. Главенствующая роль в динамике численности паразитов на урбанизированной территории принадлежит нематодам, доминирующим здесь как по видовому богатству, так и по относительной численности. Именно особенности развития доминирующих видов с прямым циклом развития вносят различия в ход сезонной динамики зараженности желтогорлой мыши паразитами, наблюдаемой в условиях урбандо-шафта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генов, Т. Хелминти на насекомоядните бозайници и гризачите в България / Т. Генов. – София: Болгарская академия наук, 1984. – 300 с.
2. Громов, И.М. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий (зайцеобразные и грызуны) / И.М. Громов, М.А. Ербаева. – СПб.: ЗИН РАН. – 1995. – 250 с.
3. Ивашкин, В.М. Методы сбора и изучения гельминтов наземных млекопитающих / В.М. Ивашкин, В.Л. Контримавичус, Н.С. Назарова. – М.: Наука, 1971. – 123 с.
4. Карасева, Е.В. Методы изучения грызунов в полевых условиях / Е.В. Карасева, А.Ю. Телицына, О.А. Жигальский. – М.: ЛКИ, 2008. – 416 с.
5. Определитель гельминтов грызунов фауны СССР: в 2 т. / Рыжиков К.М. [и др.]; под ред. К.М. Рыжикова. – М.: Наука, 1978. – Т. 1. – Нематоды и акантоцефалы. – 279 с.
6. Определитель гельминтов грызунов фауны СССР: в 2 т. / Рыжиков К.М. [и др.]; под ред. К.М. Рыжикова. – М.: Наука, 1978. – Т. 2. – Цестоды и трематоды. – 232 с.
7. Меркушева, И.В. Гельминты грызунов / И.В. Меркушева // Фауна и экология паразитов грызунов; под ред. Р.С. Чеботарева. – Минск, 1963. – С. 53–138.
8. Савицкий, Б.П. Млекопитающие Беларуси / Б.П. Савицкий, С.В. Кучмель, Л.Д. Бурко; под общ. ред. Б.П. Савицкого. – Минск: Изд. Центр БГУ, 2005. – 319 с.
9. Чикилевская, И.В. Тироглифоидные клещи из гнезд грызунов Белорусского Полесья / И.В. Чикилевская // Зоологический журнал. – 1964. – Т. XLIII, вып. 6. – С. 824–830.

Гудзь В.П., кандидат ветеринарных наук
Белявский В.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент

УО «Гродненский государственный аграрный университет», г. Гродно

О СИСТЕМЕ МЕНЕДЖМЕНТА БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ НА ПРИНЦИПАХ НАССР (ОБЗОР)

Резюме

В статье представлено развитие системы менеджмента безопасности продукции на основе анализа опасностей и критических контрольных точек (НАССР). Показано, что система менеджмента безопасности пищевой продукции ISO 22000 и схема сертификации FSSC 22000 широко используются, являясь результатом инновационного развития и совершенствования менеджмента безопасности пищевой продукции основанного на принципах НАССР.

Summary

The article presents the development of a product safety management system based on the analysis of hazards and critical control points (HACCP). It is shown that the ISO 22000 food safety management system and the FSSC 22000 certification scheme are widely used as a result of innovative development and improvement of food safety management based on HACCP principles.

Поступила в редакцию 25.06.2018 г.

Для того чтобы питание продолжало оставаться важнейшим фактором сохранения здоровья, нормального роста и развития детей, подростков, профилактики ряда заболеваний, а также поддержки высокой работоспособности взрослого населения и сохранения активного долголетия производители пищевых продуктов должны гарантировать безопасность своей продукции [7].

Основной моделью управления безопасностью пищевой продукции в мировой практике является система менеджмента безопасности продукции на основе анализа опасностей и критических контрольных точек (НАССР). Система НАССР получила общемировое значение как эффективный способ обеспечения безопасности пищевых продуктов и широко используется для оценки поставщика в международной торговле [9].

Руководитель современного конкурентоспособного пищевого производства должен не только обеспечить безопасность продукции, но и уметь доказать этот факт. Это требование было установлено службой безопасности и контроля за продуктами пи-

тания (FSIS) Департамента сельского хозяйства США, предложившей НАССР как рамочную систему реализации комплексной стратегии повышения пищевой безопасности [1].

В рамках гармонизации требований к системе менеджмента качества и безопасности пищевых продуктов на основе анализа опасностей и контрольных критических точек с международными требованиями, постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 30 июня 2004 № 29 был утвержден и введен в действие государственный стандарт Республики Беларусь СТБ 1470-2004 «Управление качеством и безопасностью пищевых продуктов на основе анализа опасностей и критических контрольных точек». Позднее постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 18 января 2012 года № 4 утвержден и введен в действие государственный стандарт Республики Беларусь СТБ 1470-2012 «Управление безопасностью пищевых продуктов на основе анализа опасностей и критических контрольных точек» [17].

С 01 июля 2013 года вступил в силу

один из важнейших технических регламентов Таможенного союза (ТР ТС 021/2011) «О безопасности пищевой продукции», который направлен на обеспечение качества всей пищевой продукции, выпускаемой в обращение на территории Таможенного союза. Одним из главных условий полноценной реализации технического регламента является выполнение требований статьи 10, согласно которой «при осуществлении процессов производства (изготовления пищевой продукции), связанных с требованиями безопасности такой продукции изготовителем должны быть разработаны, внедрены и подтверждены процедуры, основанные на принципах НАССР [5; 10].

Главная идея системы НАССР – сконцентрировать все усилия на тех процессах и условиях производства, которые являются критическими для безопасности пищевой продукции, и тем самым обеспечить выпуск продукции, не причиняющей ущерба потребителю. Суть подхода, используемого в системе, весьма проста и доступна и заключается в том, что любые риски для безопасности пищевой продукции должны быть либо исключены, причем не столько за счет деятельности по контролю, сколько в результате способности предприятия предвидеть эти опасности и осуществлять соответствующие предупреждающие действия.

НАССР – это концепция, предусматривающая систематическую идентификацию, оценку и управление опасными факторами, существенно влияющими на безопасность продукции. Система НАССР представляет собой совокупность организационной структуры, документов, производственных процессов и ресурсов, необходимых для её реализации. НАССР является предупреждающей и самодостаточной системой, позволяющей минимизировать риски на всех стадиях производства и гарантировать безопасность производимой пищевой продукции. Она определяет систематический подход к анализу обработки и производства продуктов питания, распознаванию любых возможных рисков химического, физического и биологического проис-

хождения и их контроля. В рамках системы НАССР разработаны семь принципов, включающие в себя:

- определение рисков/риск образующих факторов;
- установление критических контрольных точек;
- установление критических пределов;
- мониторинг критических контрольных точек;
- корректирующие действия;
- процедуры проверки;
- утверждение документации НАССР [6; 13].

Одним из преимуществ НАССР является то, что она представляет собой интегрированную систему контроля пищевой безопасности, внедрение которой дает потребителям уверенность в безопасности производства, позволяет неукоснительно выполнять требования законодательства в области безопасности продуктов питания и продемонстрировать эффективное управление безопасностью продукции в документах-доказательствах, которые могут быть использованы в случаях судебного разбирательства. Система НАССР многогранна и охватывает все сферы жизнедеятельности предприятия, включая правильную эксплуатацию оборудования и техники, культуру производства и заинтересованность в качестве и безопасности выпускаемой продукции каждого работника предприятия, а также учет запросов и отзывов потребителей и, наконец, самое важное – непрерывный контроль безопасности выпускаемой продукции.

Таким образом, систему НАССР можно считать своеобразной инструкцией по самоконтролю безопасности пищевой продукции.

Среди внутренних и внешних положительных моментов системы НАССР можно перечислить следующие:

- системный подход, охватывающий параметры безопасности пищевой продукции на всех этапах ее жизненного цикла;
- применение превентивного управления в критических контрольных точках;

- своевременное получение информации об отклонении процесса и возвращение его в нормативные пределы;

- однозначное определение ответственности за обеспечение безопасности пищевой продукции;

- безошибочное выявление критических процессов и концентрация на них основных ресурсов и усилий предприятия;

- значительная экономия за счет снижения доли брака в общем объеме производства;

- экономное использование ресурсов для управления безопасностью продукции;

- повышение ответственности персонала за выпуск безопасной продукции путем четкого распределения обязанностей и взаимозаменяемости;

- дополнительные возможности для интеграции с международными стандартами;

- доверие потребителей к производимой продукции, а ее безопасность может стать стратегией позиционирования;

- возможность выхода на новые рынки, в том числе международные, расширение уже существующих рынков сбыта, дополнительная защита марки;

- преимущества при участии в тендерах, стимул для инвесторов; повышение конкурентоспособности продукции предприятия;

- документальное подтверждение безопасности производимой продукции [11; 14; 20].

Наиболее полно семь принципов HACCP и многие другие прикладные аспекты обобщил и успешно реализовал на практике документ ISO 22000:2005 «Система менеджмента безопасности пищевых продуктов. Требования к любым организациям в продуктовой цепи». Данный стандарт был разработан и введен в 2005 году Международной организацией по стандартизации при сотрудничестве с Комиссией Кодекс Алиментариус, и объединил в себе принципы HACCP и системные подходы стандартов серии ISO 9001. Его задача – глобальная гармонизация способов управления безопасностью пищевых продуктов. Этот стандарт содержит ключевые элементы для реа-

лизации системы менеджмента безопасности пищевых продуктов по всей продуктовой цепи до конечного потребителя [3; 7; 19; 22].

Введение ISO 22000:2005 стало результатом функционирования, развития и модернизации системы менеджмента безопасности пищевых продуктов. Одной из главных целей разработки стандарта была гармонизация большого количества международных документов в области безопасности пищевой продукции. На его основе постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 16 октября 2006 года № 46 был утвержден и введен в действие государственный стандарт Республики Беларусь СТБ ИСО 22000-2006 «Системы менеджмента безопасности пищевых продуктов. Требования к организациям, участвующим в пищевой цепи» [16].

На первый взгляд стандарт ISO 22000 достаточно труден для восприятия, но если на предприятии уже функционирует система менеджмента безопасности пищевой продукции, основанная на принципах HACCP, то стандарт успешно может быть интегрирован с ней. Интегрированные модели системы менеджмента значительно увеличивают шансы предприятия в конкурентной борьбе [4; 21].

Стандарт ISO 22000 представляет собой важный шаг в развитии систем менеджмента безопасности пищевых продуктов, повышения результативности этих систем. В целом стандарт обеспечил унификацию требований к системе HACCP на международном уровне и их сближение с требованиями других международных стандартов систем менеджмента [2].

Под общим названием ISO 22000, помимо ISO 22000:2005, на базе принципов системы HACCP разработан еще ряд международных стандартов:

- ISO/TS 22002-1:2009 «Программы предварительных условий для безопасности пищевых продуктов. Часть 1. Производство пищевых продуктов». Этот стандарт детализирует отдельные требования раздела 7.2.3 стандарта ISO 22000: 2005, включая также дополнительные аспекты;

- ISO/TS 22003:2007 «Система менеджмента безопасности пищевых продуктов. Требования к органам, проводящим аудит и сертификацию систем менеджмента безопасности пищевых продуктов»;

- ISO/TS 22004:2005 «Система менеджмента безопасности пищевых продуктов. Руководство по применению ISO 22000:2005»;

- ISO/TS 22005:2007 «Прослеживаемость в цепочке пищевых продуктов и кормов. Общие принципы и основные требования к проектированию и внедрению систем» [7].

Ключевыми элементами стандарта ISO 22000 являются интерактивный обмен информацией по цепи производства и потребления пищевых продуктов, системное управление, базовые программы общих принципов гигиены производства пищевой продукции (Кодекс Алиментариус) и реализации принципов HACCP. Требования стандарта полностью соответствуют Директиве ЕС № 852 [12; 23].

Если сравнивать ISO 22000 с другими стандартами по безопасности пищевой продукции, то в нем усилен ряд элементов, связанных с менеджментом:

- организация должна сначала результативно спланировать создание безопасной пищевой продукции, а затем начать ее выпуск;

- стандарт определяет «входы» и «выходы» процессов анализа со стороны высшего руководства;

- усиливаются требования, касающиеся внутреннего и внешнего взаимодействия по вопросам безопасности пищевой продукции;

- необходимо, чтобы безопасность продукции входила в число бизнес-целей организации;

- организации необходимо разработать процедуры реагирования на чрезвычайные ситуации;

- обязанности руководителя группы по обеспечению безопасности пищевой продукции должны быть расширены и включать в себя требования по постоянному улучшению системы менеджмента, уп-

равлению группой по обеспечению безопасности пищевой продукции и представлению отчетов высшему руководству о состоянии системы;

- усиливается контроль над подготовкой персонала и его компетентностью;

- стандарт требует верификации программ предварительных условий;

- стандарт требует постоянного улучшения и актуализации системы [18].

Вскоре на основе требований стандартов ISO 22000, ISO 22003, ISO 22002-1, а также стандарта PAS 220:2008 «Обязательные программы, обеспечивающие безопасность продуктов питания для пищевой промышленности» была создана схема сертификации FSSC 22000. Кроме требований, содержащихся в вышеперечисленных документах, FSSC 22000 включает в себя дополнительные требования:

- перечень применимых законодательных требований;

- нормы и правила по оказанию услуг, по контролю персонала при внедрении принципов безопасности пищевых продуктов.

Международная схема безопасности пищевых продуктов FSSC 22000 является новейшей схемой сертификации для производителей продуктов питания, одобренной Глобальной инициативой по безопасности пищевых продуктов (GFSI) и удовлетворяющей требованиям большинства международных розничных сетей и известных пищевых брендов [7; 8].

На начало 2014 года сертификацию на соответствие FSSC 22000 прошло 6160 компаний. Широкое применение в странах ЕС данной системы объясняется тем, что в ней реализован один из наиболее комплексных подходов к системе менеджмента безопасности продукции основанный на стандарте ISO 22000 [15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на протяжении многих лет менеджмент на основе анализа опасностей и критических контрольных точек остается самой эффективной системой обеспечения безопасности продуктов пита-

ния в мире. Направленность НАССР на предупреждение несоответствий позволяет предотвратить ущерб от поставок небезопасной продукции и повысить конкурентоспособность предприятия. Четкая организация и документальное сопровождение позволяют завоевать доверие потребителей и контролирующих органов к продукции предприятия.

В свою очередь, система менеджмента безопасности пищевой продукции ISO 22000 и схема сертификации FSSC 22000

являются результатом инновационного развития и совершенствования менеджмента безопасности пищевой продукции основанного на принципах НАССР. Использование позволяет учитывать не только риски при производстве пищевой продукции, но и решает вопросы повышения уровня безопасности по всей цепочке пищевой цепи «от поля до стола», обеспечивая значительный вклад в реализацию государственной политики в области охраны здоровья населения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александровская, Л.Н. Эффективность ХАССП / Л.Н. Александровская, О.М. Розенталь, В.Н. Суряков // *Методы оценки соответствия*. – 2009. – № 7. – С. 26–28.
2. Аршакуни, Варос. От системы ХАССП – к системе менеджмента безопасности пищевой продукции по ИСО 22000 / Варос Аршакуни // *Стандарты и качество*. – 2008. – № 2. – С. 88–89.
3. Бабийчук, О.Л. Совершенствование системы контроля на основе анализа рисков и критических контрольных точек / О.Л. Бабийчук, Н.Ю. Вытовтова, В.О. Капитонова // *Известия Юго-Западного государственного университета*. – 2013. – № 1. – С. 120–126.
4. Вайскрובה, Е.С. Формирование элементов интегрированной системы управления качеством и безопасностью на мясоперерабатывающих предприятиях / Е.С. Вайскрובה, Н.И. Барышникова // *Вестник БГАУ*. – 2015. – № 2. – С. 35–39.
5. Горлов, И.Ф. Требования технических регламентов Таможенного союза – гарантия безопасности продуктов питания / И.Ф. Горлов, О.В. Сычева // *Вестник АПК Ставрополя*. – 2014. – № 4 (16). – С. 239–242.
6. Димитриев, А.Д. Проблемы использования принципов ХАССП при производстве сладкосливочного масла «Крестьянское» / А.Д. Димитриев, Н.В. Трофимова // *Вестник Российского университета кооперации*. – 2015. – № 1 (19). – С. 39–42.
7. Запорожский, А.А. К вопросу о системе менеджмента качества и безопасности пищевых продуктов / А.А. Запорожский, Г.И. Касьянов, Э.Ю. Мишкевич // *Техника и технология пищевых производств*. – 2013. – № 4. – С. 17–21.
8. Зуева, Е.В. Система менеджмента безопасности пищевой продукции: FSSC 22000 – новая схема сертификации на основе ISO 22000:2005 / Е.В. Зуева // *Технико-технологические проблемы сервиса*. – 2011. – № 4 (18). – С. 101–106.
9. Исмуратов, С.Б. Вопросы по внедрению на предприятиях Республики Казахстан системы НАССР / С.Б. Исмуратов, А.А. Муратов, А.С. Сегизбаева // *Известия ТСХА*. – 2014. – Вып. 5. – С. 95–102.
10. Лаухина, Г.Г. О реализации технического регламента Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» / Г.Г. Лаухина // *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. – 2013. – № 2 (52). – С. 12–14.
11. Лоретц, О.Г. Повышение качества молока-сырья с использованием принципов ХАССП / О.Г. Лоретц, М.И. Барашкин // *Аграрный вестник Урала*. – 2012. – № 8 (100). – С. 41–42.
12. Пункевич, Б.С. Обеспечение безопасности пищевой продукции (ГОСТ Р ИСО 22000-2007) / Б.С. Пункевич, В.Н. Фокин // *Молочная промышленность*. – 2008. – № 2. – С. 34–35.
13. Путилина, Е.К. Применение принципов анализа рисков и критических контрольных точек в судостроении / Е.К. Путилина // *Вестник Астраханского государственного технического университета*. – 2013. – № 1. – С. 138–143.
14. Развитие систем управления качеством на предприятиях пищевой промышленности / Т.И. Овчинникова [и др.] // *Практический маркетинг*. – 2008. – № 10 (140). – С. 13–17.
15. Сергиенко, О.И. Управление продуктовой цепочкой продовольствия: роль международных стандартов качества и безопасности / О.И. Сергиенко, А.В. Белова // *Научный журнал НИУ ИТМО*.

Серия «Экономика и экологический менеджмент». – 2014. – № 2. – С. 47–55.

16. Системы менеджмента безопасности пищевых продуктов. Требования к организациям участвующим в пищевой цепи: СТБ 22000-2006. – Введ. 16.10.2006. – Минск: Белорус. Гос. ин-т стандартизации и сертификации, 2006. – 29 с.

17. Системы менеджмента безопасности пищевых продуктов. Управление безопасностью пищевых продуктов на основе анализа опасностей и критических контрольных точек. Общие требования: СТБ 1470-2012. – Введ. 18.01.2012. – Минск: Белорус. гос. ин-т стандартизации и сертификации, 2012. – 11 с.

18. Сурак, Джон Г. Рецепт безопасной пищевой продукции: ИСО 22000 и ХАССП / Джон Г. Сурак // Стандарты и качество. – 2008. – № 2. – С. 96–100.

19. Сурков, И.В. Разработка интегрированной системы менеджмента качества и безопасности на примере кондитерского предприятия / И.В. Сурков, Г.А. Гореликова, В.С. Биндюк // Техника и технология пищевых производств. – 2015. – № 1. – С. 112–117.

20. Толстова, Е.Г. Система ХАССП как методологическая основа обеспечения безопасности продуктов питания / Е.Г. Толстова // Вестник БГАУ. – 2014. – № 1. – С. 130–133.

21. Фролова, Н.Н. Внедрение стандарта ИСО 22000 / Н.Н. Фролова, Н.Н. Храброва // Молочная промышленность. – 2008. – № 7. – С. 9–10.

22. Шепелева, Е.В. Методика оценки рисков безопасности молочной продукции / Е.В. Шепелева, Е.В. Митасева, А.С. Ремизова // Молочная промышленность. – 2011. – № 12. – С. 14–17.

23. Шепелева, Е.В. Принципы ХАССП: международные стандарты в области управления безопасностью пищевой продукции / Е.В. Шепелева // Молочная промышленность. – 2012. – № 9. – С. 62–64.

УДК 619:579.842.14

Тяпша Ю.И., кандидат ветеринарных наук
Дубаневич О.В., старший научный сотрудник
Андрусевич А.С., кандидат ветеринарных наук
Стрельчenea И.И., кандидат ветеринарных наук

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

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕКЦИЯ ГЕНОМА *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

Резюме

Проведен скрининг нуклеотидных последовательностей гена *fliC* к сальмонеллам различных видов, циркулирующих у свиней, пушных зверей, птиц и КРС, и подобраны специфичные праймеры к *Salmonella typhimurium*. В результате подбора оптимальных концентраций реакционных смесей и параметров амплификации сконструирована тест-система ПЦР для детекции генома *Salmonella typhimurium*. Она обладает специфичностью, отсутствием неспецифических шмеров, чувствительностью не менее 20 копий геномов ДНК в исследуемом образце.

Summary

The screening of the nucleotide sequences of the *fliC* gene to salmonella of various species circulating in pigs, fur animals, birds and cattle was carried out and specific primers for *Salmonella typhimurium* were selected. As a result of selection of optimal concentrations of reaction mixtures and filtration parameters, a PCR test system was designed to detect the genome of *Salmonella typhimurium*. It has specificity, the absence of nonspecific Schmer, sensitivity of at least 20 copies of DNA genomes in the sample.

Поступила в редакцию 24.10.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Сальмонеллез (*Salmonellosis*) – полиэтиологическая инфекционная болезнь с

фекально-оральным механизмом передачи, вызываемая бактериями рода *Salmonella* семейства *Enterobacteriaceae*, характеризую-

ется разнообразными клиническими проявлениями: от бессимптомного носительства до тяжелых септических форм.

При остром течении болезнь у животных проявляется поражением желудочно-кишечного тракта и септицемией, а при подостром и хроническом течении – в виде пневмоний и артритов. У овец, кобыл и реже у коров сальмонеллез сопровождается абортами. У птиц, по мнению Gast (1997), можно выделить три клинические формы сальмонеллеза: пуллороз, тифоидная лихорадка домашней птицы и паратифоидная инфекция [1].

Источниками возбудителя служат больные и переболевшие животные бактерионосители, включая грызунов и диких птиц. Фактором передачи возбудителя инфекции являются инфицированные корма, вода и предметы ухода за животными. У птиц возможна трансвариальная передача сальмонелл.

Сальмонеллез наносит значительный ущерб животноводству, который складывается из падежа значительной части заболевшего молодняка, отставания в росте и развитии переболевших животных, аборт и расходов, связанных с организацией профилактических и лечебных мероприятий. [2].

У человека сальмонеллез проявляется в виде пищевых токсикоинфекций. Наиболее важным резервуаром сальмонелл, представляющим опасность для инфицирования людей, является домашняя птица.

Диагноз устанавливают на основании комплекса клинических, патологоанатомических, эпизоотологических данных и результатов лабораторной диагностики. Широко используемый бактериологический метод выявления сальмонелл путем посева исследуемого материала на среду Эндо или посева через среду накопления с последующей идентификацией в реакциях агглютинации с родовыми и групповыми агглютинирующими сыворотками характеризуется значительной продолжительностью исследования, большой трудоемкостью и высокой себестоимостью. Проведение стандартной процедуры бактериологической идентификации микроорганизмов рода *Salmo-*

nella занимает 3–4 дня.

Рост заболеваемости сальмонеллезом животных и людей обуславливает необходимость разработки современных высокочувствительных и специфичных методов экспресс-диагностики болезни, выявления бактерионосителей, мониторинга кормов для животных, а также первичного животного продукта, полуфабрикатов и готового продукта животного происхождения.

Всем вышеперечисленным требованиям наиболее полно отвечает метод выявления ДНК возбудителя, основанный на применении полимеразной цепной реакции (ПЦР). С помощью ПЦР удастся обнаружить крайне малое количество сальмонелл, идентифицировать их на видовом и серогрупповом уровнях и подтвердить принадлежность какого-либо штамма определенному серовару сальмонелл [3, 4]. Разработана отечественная тест-система для детекции генома возбудителя *Salmonella cholerae suis* [5].

Актуальность проблемы сальмонеллезов связана с высокими уровнями заболеваемости и сохраняющейся тенденцией к ее росту, трудностями в эпидемиологическом расследовании причин сальмонеллезов, формированием резистентности к противомикробным препаратам, отсутствием эффективной специфической профилактики. Разработка методов экспресс-диагностики сальмонеллезов и методов типирования сальмонелл является одним из важных моментов сдерживания распространения возбудителей сальмонеллезов [6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В работе были использованы следующие материалы: штаммы сальмонелл из коллекции микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», набор для выделения нуклеиновых кислот, 10x PCR буфер для Taq ДНК-полимеразы, Taq ДНК-полимераза (5 ед/мкл, Fermentas); смесь дезоксирибонуклеозидтрифосфатов (25 мМ, Fermentas),

маркер молекулярного веса «GeneRuler 50 bp Ladder» (Fermentas, Литва); 10x ТЕ-буфер (pH 8,0, Fermentas); бромистый этидий (SIGMA, США); агароза (helicon, Россия); раствор MgCl₂ (50 мМ); праймеры (Праймтех), буфер для нанесения проб; стерильная деионизированная вода.

В работе было использовано следующее оборудование: ламинар, микротермостат «BIOSAN-CH100» (Латвия), амплификатор «С 1000 Thermal Cycler», BIO-RAD (США), Gel Doc XR, BIO-RAD (США), микроцентрифуга высокоскоростная (14000 об/мин, Jouan (Франция), комплект автоматических пипеток «SOCOREX» (Швейцария) вместимостью 0,1–2 мкл, 0,5–10 мкл, 20–200 мкл, 100–1000 мкл, пробирки типа «эппендорф» вместимостью 0,5 и 1,5 мл, вортекс «BIOSAN» (Латвия), пробирки для ПЦР вместимостью 0,2 мл для прибора «С 1000 Thermal Cycler», система для электрофореза «Consort» (Бельгия), термостат SEL LAB (Германия), весы RADWAG AS 220/X (Польша), система подготовки чистой воды «Crystal B», ADRONA (Латвия), паровой автоклав, ионметр (рН-метр).

Методы исследований: Поиск новых синтетических олигонуклеотидных праймеров осуществляли по базам данных GeneBank – Национального института здоровья США, EMBL – Европейской молекулярно-биологической лаборатории. Полученные последовательности нескольких пар праймеров дополнительно тестировали на специфичность с помощью моделирования ПЦР в программе Primer-3 и BLAST on-line (www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast). Окончательный выбор праймеров основывался на следующих критериях: высокий индекс сходства фрагмента ДНК различных штаммов *Salmonella typhimurium*, температура отжига 55–60 °С, размер амплифицируемого фрагмента 200–250 пар нуклеотидов (п.н.). В результате выбраны и синтезированы олигонуклеотидные праймеры размером 236 пар нуклеотидов. Ориентировочные температуры плавления и отжига праймеров рассчитывали по формуле $T_m = 4(G+C) + 2(A+T)$.

Выделение ДНК проводили по прото-

колу к комплекту реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-сорб» фирмы Интерлабсервис.

Анализ бактериальных штаммов сальмонелл на наличие ДНК *Salmonella typhimurium* проводили методом ПЦР с электрофоретической детекцией. В основе метода лежит амплификация специфического участка гена, за счет многократного повторения циклов денатурации ДНК в исследуемой пробе, отжига специфических олигонуклеотидных затравок (праймеров, содержащих последовательности, комплементарные с целевым участком) и синтеза комплементарных цепей ДНК с помощью фермента Таq-полимеразы. В результате проведения определенного (N) количества циклов амплификации концентрация синтезируемого фрагмента в исследуемой пробе увеличивается в 2^N раз (например, в миллион раз после 20 циклов), что позволяет учитывать результаты анализа в 1,5–2 % агарозном геле с визуализацией фрагментов ДНК, окрашенных бромистым этидием в УФ-свете. Для постановки ПЦР использовали: магний в концентрациях 2 и 3 ммоль, ДНК-полимеразу в концентрациях 1,25 и 2,5 единиц активности на 25 мкл реакционной смеси, смесь дНТП в концентрациях 0,2 и 0,4 ммоль, праймеры в концентрациях 0,3 и 0,4 мкмоль. Амплификацию проводили по программе: 1 цикл (95 °С 5 мин), 40 циклов (95 °С 0,5 мин, 54–59 °С 0,5 мин, 72 °С 0,5 мин), 1 цикл (72 °С 5 мин).

Амплификаты (по 5–10 мкл от пробы) анализировали с помощью электрофореза в 1,5–2 % агарозном геле.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При разработке тест-системы ПЦР для обнаружения ДНК *Salmonella typhimurium* использовали базы данных национального центра биотехнологической информации – GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), Европейского института биоинформатики – EMBL (<http://www.ebi.ac.uk/>) и Японского банка ДНК – DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/>). Используя данные баз, подобрали специфичные праймеры к *fliC* гену *Salmonella typhimurium* (таблица 1).

Таблица 1. – Основные параметры сконструированных праймеров

Праймер	Последовательность, 5'-3'	Температура плавления (T _m), °C	GC, %	Ампликон, п.н.
F-Stm	CGAAATACACTGCAGATGACG	62	47.6	122
R-Stm	ACCTTCGGCTTTACTTGCAG	60	50	

Ориентировочные температуры плавления праймеров рассчитывали по формуле ($T_m = 4(G+C) + 2(A+T)$).

На рисунке 1 представлено филогенетическое дерево штаммов *Salmonella typhi-*

murium, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella dublin*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella abortusequi*, *Salmonella enteritidis* к гену *fliC*, построенное с помощью программы Align X.

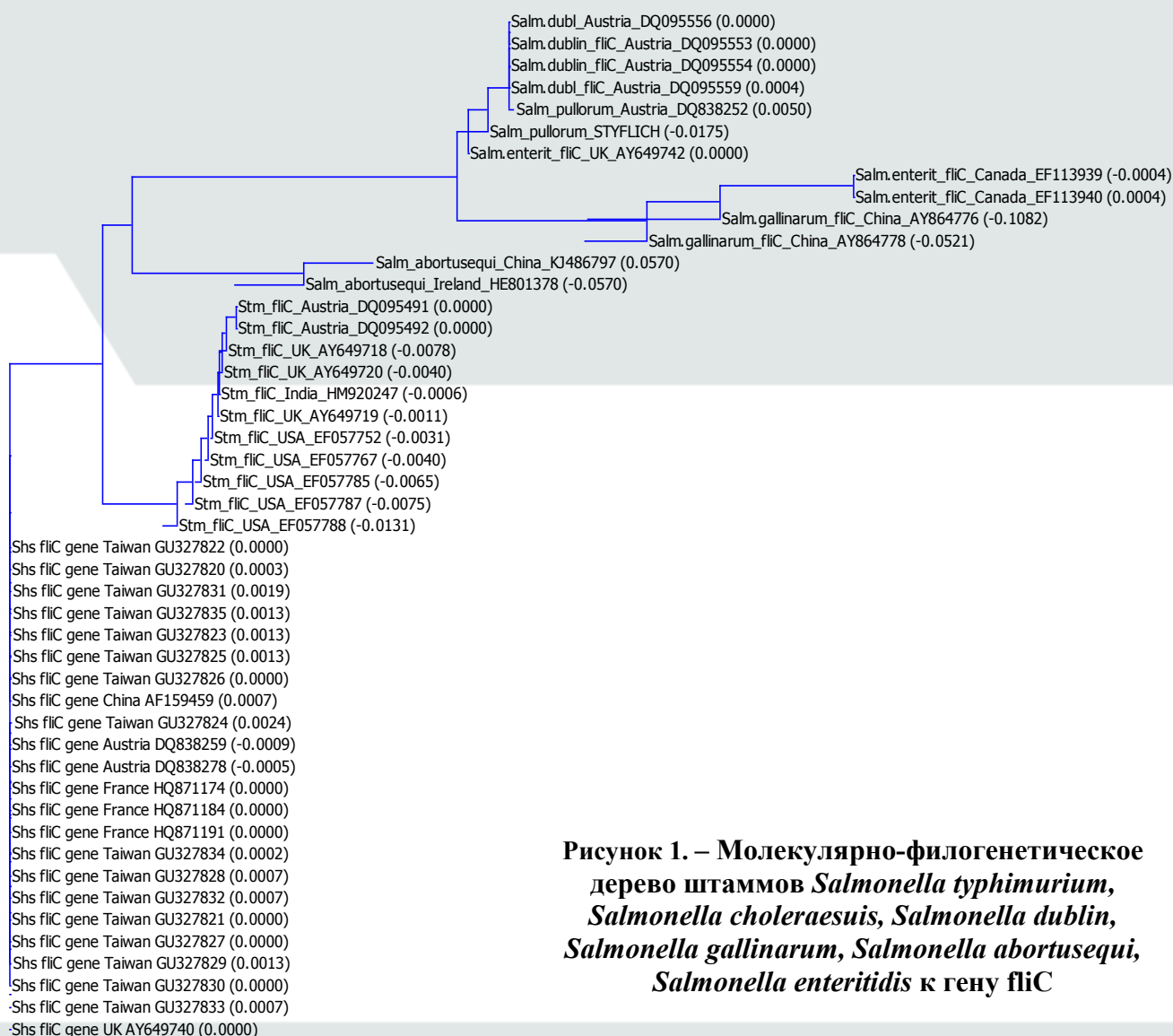


Рисунок 1. – Молекулярно-филогенетическое дерево штаммов *Salmonella typhimurium*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella dublin*, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella abortusequi*, *Salmonella enteritidis* к гену *fliC*

На рисунке 1 видно, что ген *fliC* у данных штаммов сальмонелл имеет достаточно сильную вариабельность по отношению к гену *fliC* *Salmonella typhimurium*.

Специфичность праймеров установи-

ли путем нуклеотидного выравнивания прямого (рисунок 2) и обратного (рисунок 3) праймеров к фрагментам геномов различных штаммов сальмонелл.

```

DQ095553..(980)·GAAGCATAAATATGCTGTTAAGGGCG
DQ095554..(980)·GAAGCATAAATATGCTGTTAAGGGCG
DQ095560..(980)·GAAGTAAACAATGCTGTTAAGGGCG
EF113939..(293)·ATAATCTA-CACGATATTATGGCA
EF113940..(300)·ATAATCTA-CACGATATTATGGCA
AY649742..(1069)·GAAGCATAAATATGCTGTTAAGGGCG
·DQ838278..(969)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·AF159459..(1154)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·HQ871174..(986)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·HQ871184..(986)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·HQ871191..(986)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·GU327820..(1058)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·GU327821..(1058)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·GU327822..(1058)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·GU327823..(1058)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·GU327824..(1058)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·GU327825..(1058)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·GU327832..(1058)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·GU327833..(1058)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·GU327834..(1058)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·GU327835..(1058)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
·AY649740..(1058)·CTAGCTA-CGTTGACGCTACCACTG
DQ095491..(954)·CGAAATA-CACTGCAGATGAC---G
DQ095492..(954)·CGAAATA-CACTGCAGATGAC---G
HM920247..(1043)·CGAAATA-CACTGCAGATGAC---G
AY649718..(1043)·CGAAATA-CACTGCAGATGAC---G
AY649719..(1043)·CGAAATA-CACTGCAGATGAC---G
AY649720..(1043)·CGAAATA-CACTGCAGATGAC---G

```

Рисунок 2. – Фрагмент множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей прямого праймера

```

DQ095553..(1086)·TTATTGATAAAGCAGCTTCT
DQ095554..(1086)·TTATTGATAAAGCAGCTTCT
DQ095560..(1086)·TTATTGATAAAGCAGCTTCT
EF113939..(404)·TACCCATCAAGGCCA----A
EF113940..(411)·TACCCATCAAGGCCA----A
AY649742..(1175)·TTATTGATAAAGCAGCTTCT
DQ838259..(1074)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
DQ838278..(1074)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
AF159459..(1259)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
HQ871174..(1091)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
HQ871184..(1091)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
HQ871191..(1091)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
GU327820..(1163)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
GU327832..(1163)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
GU327833..(1163)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
GU327834..(1163)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
GU327835..(1163)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
AY649740..(1163)·ATGCCAGCAAAGCCGCTGGG
DQ095491..(1056)·CTGCAAGTAAAGCCGAAGGT
DQ095492..(1056)·CTGCAAGTAAAGCCGAAGGT
HM920247..(1145)·CTGCAAGTAAAGCCGAAGGT
AY649718..(1145)·CTGCAAGTAAAGCCGAAGGT
AY649719..(1145)·CTGCAAGTAAAGCCGAAGGT
AY649720..(1145)·CTGCAAGTAAAGCCGAAGGT

```

Рисунок 3. – Фрагмент множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей обратного праймера

На рисунке 3 нуклеотидное различие с *Salmonella choleraesuis* составляет 6 нуклеотидов, что является достаточным критерием специфичности праймера.

Отработан режим амплификации при детекции генома *Salmonella typhimurium*, определена чувствительность тест-системы. Изначально в составе реакционной смеси количество полимеразы составило 2.5 единицы, магния – 3 ммоль и дНТП – 0,4 ммоль (рисунок 4).

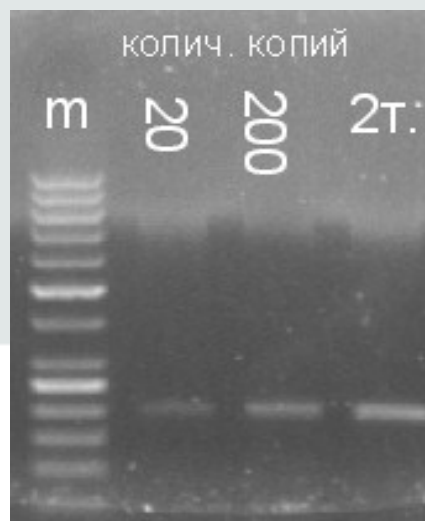


Рисунок 4. – Электрофорез ампликонов полученных при выделении ДНК из разведений культуры *Salmonella typhimurium*

На рисунке 4 видно, что чувствительность тест-системы составляет не менее 20 клеток в исследуемой пробе.

В пробах от 200 клеток до 20 клеток были получены специфические полосы, но с диффузным неспецифическим шлейфом, что могло быть связано с избытком полимеразы (2.5 единицы), магния (3 ммоль) и дНТП (0,4 ммоль).

С пробой, где чувствительность составила 20 клеток, определили оптимальную температуру отжига (рисунок 5).

На рисунке видно, что амплификация успешно происходит в широких диапазонах температур. Наибольшее количество ПЦР продукта образовывалось при температуре отжига 55 °С.

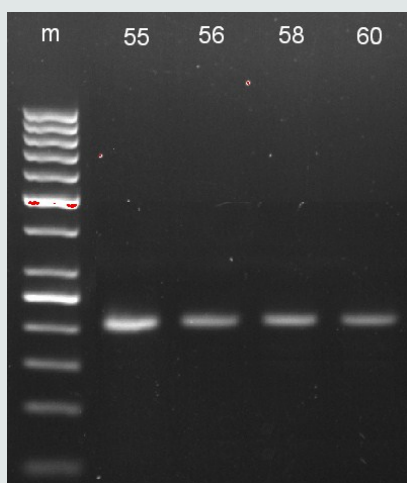


Рисунок 5. – Влияние температуры отжига на количество ПЦР продукта при амплификации

На следующем этапе была определена чувствительность тест-системы с оптимизированными параметрами амплификации и концентрации реагентов: количество полимеразы 1,25 единицы, магния 2 ммоль и дНТП 0,2 ммоль в реакционной смеси (рисунок 6).

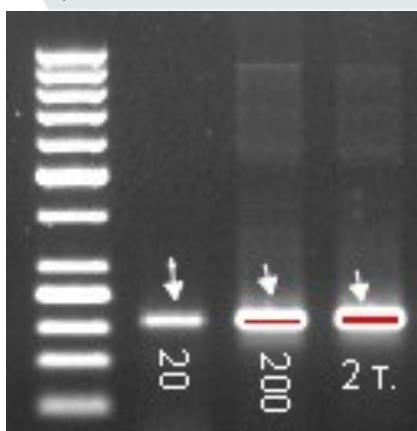


Рисунок 6. – Электрофорез ампликонов, полученных при выделении ДНК из разведений *Salmonella typhimurium*

Чувствительность тест-системы составила не менее 20 клеток сальмонелл в исследуемой пробе. Оптимизированные концентрации в реакционной смеси полимеразы, дНТП и магния привели к исчезновению неспецифических полос.

Родовую и видовую специфичность экспериментальной тест-системы для детекции генома *Salmonella typhimurium* про-

верили с ДНК культур *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella dublin*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *E. coli* (рисунок 7).

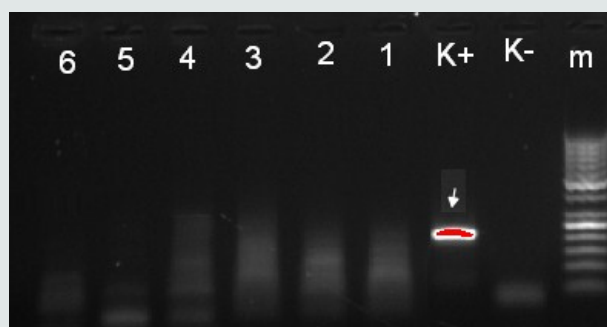


Рисунок 7. – Результаты амплификации с ДНК культур *Salmonella choleraesuis* (1), *Salmonella dublin*(2), *Pasteurella multocida* (3), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (4), *Haemophilus parasuis*(5), *E. coli* (6)

По результатам амплификации с ДНК культур *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella dublin*, *Pasteurella multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *E. coli* видно, что тест система специфична.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Сделан скрининг нуклеотидных последовательностей гена *fliC* сальмонелл различных видов, циркулирующих у свиней, пушных зверей, птиц и КРС, и подобраны специфичные праймеры к *Salmonella typhimurium*, из которых при испытаниях в лабораторных условиях отобрана лучшая пара.

2. Сконструирована отечественная тест-система ПЦР для детекции генома возбудителя *Salmonella typhimurium*.

3. Тест-система ПЦР для детекции генома *Salmonella typhimurium* обладает специфичностью, отсутствием неспецифических шмеров, чувствительностью не менее 20 копий клеток в исследуемом образце.

4. Оптимальные концентрации реагентов реакционной смеси для детекции генома *Salmonella typhimurium*: полимеразы – 1,25 единицы; магний – 2 ммоль; дНТП – 0,2 ммоль.

5. Оптимальный температурный режим амплификации: 1 цикл (95 °С – 5 мин);

40 циклов (95 °С – 0,5 мин, 55 °С – 0,5 мин, 72 °С – 0,5 мин); 1 цикл (72 °С – 5 мин).

ЛИТЕРАТУРА

1. Gast, R.K. Detecting infections of chickens with recent *Salmonella pullorum* isolates using standard serological methods // *Poult Sci.* 1997. – Vol. 76. – P. 17–23.
2. Ахмедов, А.М. Сальмонеллезы молодняка / А.М. Ахмедов. – М.: Колос, 1983. – 256 с.
3. Яцышина, С.Б. Выявление и типирование возбудителей сальмонеллеза молекулярно-генетическими методами: дис. ... канд. биол. Наук / С.Б. Яцышина. – М., 2003. – 112 с.
4. Rapid detection of *Salmonella* from hydrodynamic pressure-treated poultry using molecular beacon real-time PCR *Food Microbiology.* / J.R. Patel [et al.]. – 2006. – Vol. 23. – P. 39–46.
5. Тяпша, Ю.И. Молекулярно-генетическая детекция генома *Salmonella cholerae suis* / Ю.И. Тяпша, О.В. Дубаневич, А.С. Андрусевич // *Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск, 2018. – Т. 54, вып. 2. – С. 67–72.*
6. Токарев, В.А. Варианты мониторинга госпитальных штаммов ВБИ, сальмонеллезной этиологии / В.А. Токарев, Е.И. Гудкова, А.А. Адарченко // *Внутрибольничные инфекции – проблемы эпидемиологии, клиники, диагностики, лечения и профилактики: тез. докл. 2 Рос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – М., 1999. – С. 236–237.*

Наши услуги

- Гематологическое исследование крови
- Биохимическое исследование сыворотки крови
- Бактериальное исследование патологического материала
- Бактериальное исследование молока с подтитровкой к антибиотикам
- Исследование крови реагирующих на туберкулин коров
- Бактериальное исследование содержимого матки и влагалища (слизи, экссудата) с подтитровкой к антибиотикам
- Исследование патологического материала на туберкулез
- Исследование на паразитозы животных (стронгилодоз, трихостронгилидозы, эймериозы, балантидиоз)
- Гельминтологические исследования животных (фасциолез, диктиокаулез, телязиоз, желудочно-кишечные нематодозы)
- Паразитологические исследования для выявления криптоспоридий, анаплазм, бабезий, балантидий, чесоточных клещей
- Лабораторная диагностика возбудителей инфекции крупного рогатого скота и свиней методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)
- Диагностика криптоспоридиаза
- Обследование биотопов на выявление промежуточных хозяев трематод и исследование их на партениты фасциол

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»
220003, г. Минск, ул. Брикета, 28, тел./факс (+37517) 508-81-31
По вопросам приобретения Вы можете обратиться в отдел снабжения и сбыта, тел. (017) 508-81-35
E-mail: bievmtut.by

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»
220003, г. Минск, ул. Брикета, 28, тел./факс (+37517) 508-81-31

По вопросам приобретения Вы можете обратиться в отдел снабжения и сбыта, тел. (017) 508-81-35
E-mail: bievmtut.by

Бирюк Е.Н., кандидат сельскохозяйственных наук¹

Кручёнок Т.В., инженер¹

Пстыга Т.Г., инженер¹

Черник М.И., кандидат ветеринарных наук²

Захарик Н.В., кандидат ветеринарных наук²

Гуринович О.Л., магистр биологических наук²

¹РУП «Институт мясо-молочной промышленности», г. Минск

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

ЛАКТОБАЦИЛЛУС РЕУТЕРИ – ПРЕДСТАВИТЕЛЬ МИКРОФЛОРЫ ПЧЕЛЫ МЕДОНОСНОЙ APIS MELLIFERA L.

Резюме

Проведены исследования по выделению и идентификации молочнокислых бактерий из пчел и пчелопродуктов. Изучены культурально-морфологические и производственно ценные свойства выделенных изолятов, три культуры идентифицированы как *Lactobacillus reuteri*, ранее не изолируемые от медоносных пчел.

Summary

Researches on isolation and identification of lactic acid bacteria from bees and bee products are carried out. The cultural-morphological and production-valuable properties of the isolated isolates are investigated, three cultures were identified as *Lactobacillus reuteri*, not previously isolated from honey bees.

Поступила в редакцию 02.11.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Медоносные пчелы являются высокоценным ресурсом во всем мире. Среди всех опылителей наиболее важны и оказывают ключевое экосистемное обслуживание культур, фруктов и дикорастущих растений. В то же время на популяции медоносных пчел оказывают влияние многие факторы, которые могут действовать в одиночку или в сочетании друг с другом. В последние десятилетия во всем мире пчеловодство сталкивается с крупномасштабными потерями, причины которых обнаруживаются во взаимодействии нескольких биотических и абиотических факторов, таких как использование пестицидов, потеря среды обитания, распространение патогенов и паразитов, появление новых возбудителей и заболеваний пчел, изменения климата [14].

Микробное сообщество пищеварительного тракта является важным фактором, влияющим на здоровье пчел как на

индивидуальном, так и на колониальном (групповом) уровнях. До настоящего времени большинство исследований микробных сообществ медоносных пчел были сосредоточены на болезнетворных микроорганизмах [10], в то время как гораздо меньше внимания уделялось непатогенным микроорганизмам и их потенциальной выгоде для отдельных пчел или целых колоний. Вместе с тем растет понимание и осознание важности состава кишечной микрофлоры для здоровья и развития пчелосемей [15, 17, 18, 19].

Применение молекулярно-генетических методов исследований позволило установить, что микрофлора медоносных пчел (*Apis mellifera* L.) из различных стран и континентов относительно постоянная и представлена восьмью флотипами (рисунок 1).

Этот результат противоречит результатам предыдущих исследований, которые базировались на культуральных методах

исследований показали сложную и непоследовательную микробиоту более чем 6000 бактериальных штаммов у *A. mellifera* [18].

Восемь характерных филотипов сос-

тавляют 95 % бактериальных 16S-рРНК-последовательностей, выделенных в основном из пищеварительного тракта *A. mellifera*, и представляют пять бактериальных классов [20, 28].

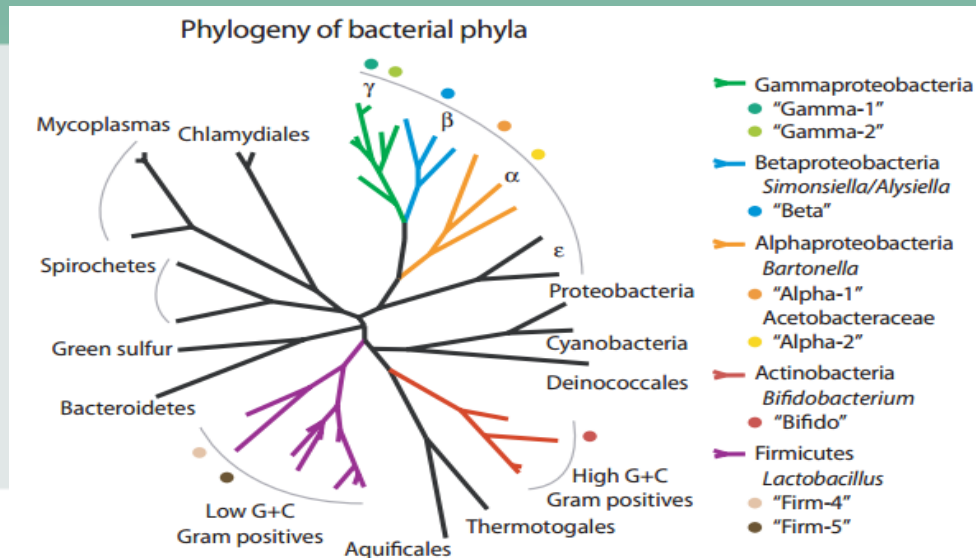


Рисунок 1. – Филогенетическая позиция микрофлоры медоносных пчел *Apis mellifera* L. [28]

Учитывая тот факт, что пчелы чрезвычайно чувствительны к различным веществам химической и бактериальной природы, перспективными для применения в пчеловодстве являются пробиотические препараты, которые устойчивы к литическим и пищеварительным ферментам, длительно сохраняют жизнеспособность в желудочно-кишечном тракте животных и являются представителями нормальной микрофлоры медоносных пчел [3].

Бактерии рода *Lactobacillus* очень важны для поддержания кишечной микробной экосистемы [25]. Они образуют самый многочисленный род в гетерогенной группе из молочнокислых бактерий и являются важными «жителями» микробиоты желудочно-кишечного тракта.

В отчетах Audisio и Benitez-Ahrendts [12] было показано, что *Lactobacillus johnsonii*, выделенные из кишечника *Apis mellifera* L. оказали благотворное влияние на колонии пчел. По данным Naser Tajabadi [24] из медового зобика азиатской гигантской

пчелы, *Apis dorsata*, были выделены и идентифицированы два штамма лактобактерий *Lactobacillus kunkeei* и *Lactobacillus vermiform*.

По данным Kawasaki [22], лактобактерии *Lactobacillus kunkeei* и *Lactobacillus ozensis*, выделенные из цветов, также были обнаружены у пчел.

По сообщениям различных ученых, от пчел были выделены *Lactobacillus rigidus apis*, *Lb. constellatus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. crispatus*, *Lb. alvei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum* [25, 26, 28].

Mahesh et al. [23] указывают, что два микробных рода, *Lactobacillus* и *Wolbachia*, преимущественно присутствовали в значительном количестве в средней кишке *Apis mellifera carnica*.

От шмелей выделены штаммы *Lactobacillus bombicola* и *Lactobacillus bombi* [11].

Heather R. Mattila [20] сообщает, что самыми активными микробами в перге были бактерии рода *Paralactobacillus*.

Важными составляющими иммунной

системы медоносной пчелы являются антимикробные пептиды (дифенсины), которые по силе своего действия сопоставимы с антибиотиками и могут быть использованы в разработке лекарственных препаратов, обладающих противогрибковыми и антибактериальными свойствами. Использование антибиотиков и фунгицидов в лечении болезней пчел приводит к подавлению их иммунитета. Решением этой проблемы является усиление иммунитета медоносной пчелы путем увеличения уровня экспрессии антимикробных пептидов в самих пчелах. Следует отметить, что бактерии рода *Lactobacillus* стимулируют увеличение уровня экспрессии генов дифенсинов, что обуславливает возможность их использования в качестве пробиотиков [5]. Лучший эффект достигается при использовании пробиотиков в комплексе с аминокислотно-витаминными препаратами [7].

Актуально также применение пребиотиков, поддерживающих полезные для здоровья функции физиологической микрофлоры кишечника. Их действие основано на избирательном стимулировании полезных для организма представителей кишечной микрофлоры, к которым в первую очередь относятся бифидобактерии и лактобациллы. В свою очередь, нормальная микрофлора кишечника, развиваясь под влиянием пребиотиков, оказывает на организм лечебное и профилактическое действие [1, 6].

Целью наших исследований было выделение лактобактерий из организма пчел и пчелопродуктов, идентификация полученных изолятов и оценка их антагонистической активности, культурально-морфологических и производственно-ценных свойств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве источника для выделения лактобактерий использовали семьи пчелы медоносной (*Apis mellifera mellifera*, *Hymenoptera: Apidae*) экспериментальной пасеки РУП «Институт экспериментальной ветери-

нарии им. С.Н. Вышелесского». Нами были отобраны образцы перги, прополиса, цветочной пыльцы (обножки), воска, живые особи рабочей пчелы, трутней и пчелиный подмор.

Получение накопительных культур и исследования по выделению и идентификации бактерий проводили в лаборатории молекулярно-генетических и биохимических исследований отдела биотехнологий РУП «Институт мясо-молочной промышленности».

Выделение чистых культур проводили путем посева определенного количества разведений образца на агаризованные питательные среды МРС и Рогоза. Идентификацию выделенных изолятов осуществляли по морфологическим, культуральным и физиолого-биохимическим признакам (окрашивание по Граму, тестирование на каталазную активность, определение оптимальных и предельных температур роста, образование CO_2 , сбраживание углеводов). Кислотообразование оценивали по активной и титруемой кислотности.

Молекулярно-генетическую идентификацию проводили путем секвенирования последовательности гена 16S rRNA. Для определения таксономической принадлежности исследуемых изолятов был проведен BLAST-поиск в базе данных GenBank.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Получение накопительных культур молочнокислых бактерий из природных источников осуществляли путем культивирования отобранных образцов на среде Рогоза при температуре 37 °С. Для исследований отбирали культуры, клетки которых имели форму палочек. Для получения изолятов молочнокислых бактерий провели посев 21 накопительной культуры (таблица 1). Полученные изоляты изучали по культурально-морфологическим и производственно ценным свойствам. Для исследований были отобраны три изолята (p1392/3-5-2, p1397/ 1-3-3, p1397/2-2-2), клетки которых имеют форму палочек, кле-

точную стенку грамположительного типа, не обладают способностью к образованию спор и не содержат каталазу. Все три куль-

туры относятся к термофильным микроорганизмам и хорошо растут при температуре 45 °С.

Таблица 1. – Источники выделения накопительных культур молочнокислых бактерий

Рабочий номер накопительной культуры	Наименование объекта для выделения	Рабочий номер накопительной культуры	Наименование объекта для выделения
p1383	перга	p1401	пыльца обножка
p1385	перга	p1402	пыльца обножка
p1388	перга	p1403	пчелиный подмор
p1389	перга	p1404	пыльца обножка
p1390	воск	p1406	пыльца обножка
p1391	рабочая пчела	p1407	пыльца обножка
p1392	рабочая пчела	p1408	пыльца обножка
p1393	трутень	p1410	пыльца обножка
p1394	перга	p1411	пыльца обножка
p1397	перга	p1414	пыльца обножка
		p1415	пыльца обножка

Развитие молочнокислых бактерий сопровождается накоплением органических кислот в среде культивирования. Исследуемые культуры отличались по активности ацидогенеза. При достижении стационарной фазы роста значение pH культуральной жидкости для образца p1397/1-3-3 состав-

ляло 4,12 ед. и далее не изменялось в течение последующих 48 часов культивирования. Для образцов p1392/3-5-2 и p1397/2-2-2 значение pH=4,14 и 4,11, соответственно, достигалось через 30 часов культивирования (рисунок 2).

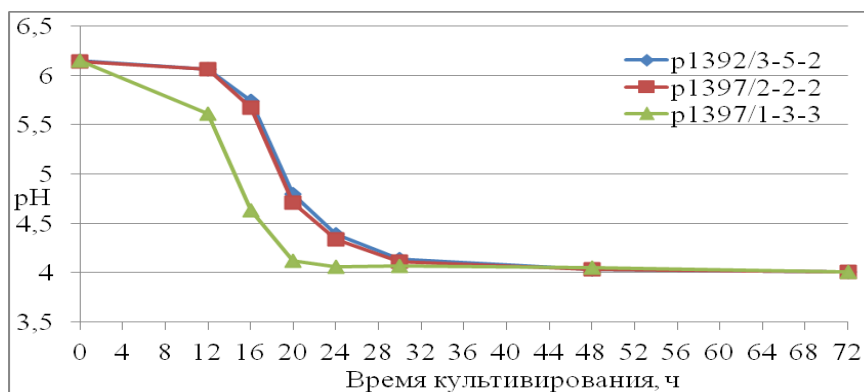


Рисунок 2. – Значение активной кислотности для исследуемых изолятов

Все три бактериальные культуры подходят для производственных целей, о чем свидетельствуют уровень титруемой кислотности 116–119 Т после 24 часов культивирования и максимальное количество жизнеспособных клеток после лиофильного высушивания (10^9 КОЕ/см³). Уровень предельной кислотности не превышает 120 °Т для всех культур.

Молекулярно-генетическую идентификацию исследуемых изолятов проводили на основе анализа нуклеотидной последо-

вательности гена 16S rRNA. Для определения таксономической принадлежности с помощью программы BLAST в базе данных GenBank проводили поиск нуклеотидных последовательностей, обладающих наибольшим сходством с нуклеотидными последовательностями генов 16S rRNA исследуемых бактерий. Нуклеотидные последовательности 16S rRNA исследуемых культур имели максимальный процент совпадения с нуклеотидными последовательностями *Lactobacillus reuteri* (AB425909.1,

AB425931.1, AY735406.1, EU394679.2, EU722746.1, FJ749596.1, JN813102.1). При построении филогенетического дерева с референтными последовательностями, имеющимися в базе GenBank, исследуемые

культуры расположены на одной ветви со штаммами *Lactobacillus reuteri*, что позволяет их идентифицировать как *Lactobacillus reuteri* (рисунок 3).

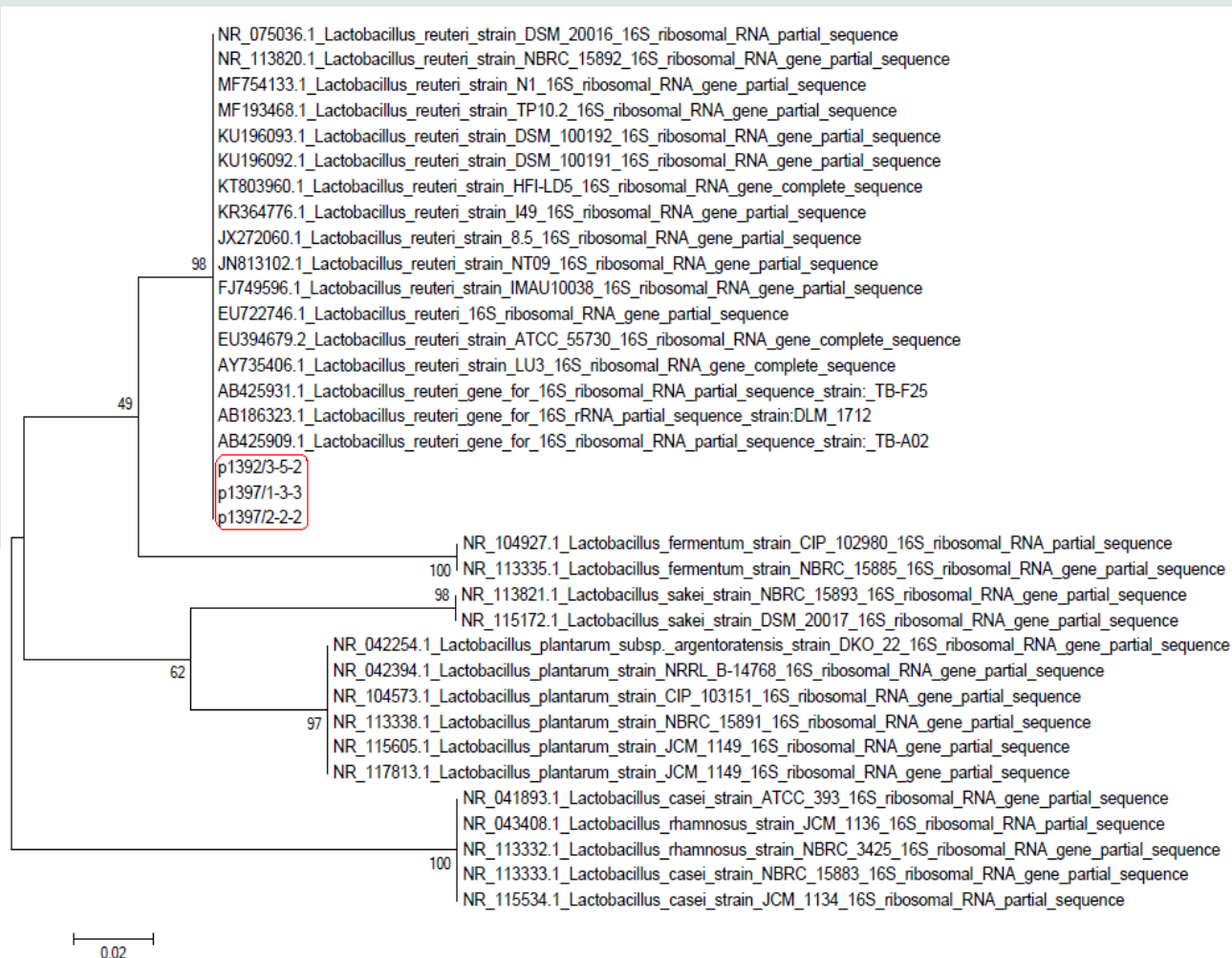


Рисунок 3. – Филогенетическое дерево, отражающее родственные связи исследуемых культур с референтными штаммами рода *Lactobacillus*, депонированными в международной базе GenBank

Lactobacillus reuteri впервые были выделены немецким микробиологом Герхардом Реутером (Gerhard Reuter) в 1960-х годах. *Lactobacillus reuteri* – облигатная гетероферментативная молочнокислая палочка неправильной формы с закругленными концами, микроаэрофил. Располагаются по отдельности, парами и небольшими кластерами. Продуцируют большое количество глюкозидов и фруктанов – экзополисахаридов, которые рассматриваются как пребиотики [9]. Благодаря специфическим ферментативным процессам, в частности гетероферментации, *Lactobacillus*

reuteri в процессе своей жизнедеятельности образует короткоцепочечные жирные кислоты – уксусную и молочную. Процесс сопровождается выделением углекислого газа и этанола, что создает низкий pH в просвете кишечника.

Уксусная кислота ингибирует активность дрожжей, грибов и некоторых видов микроорганизмов, а углекислый газ и перекись водорода оказывают противомикробное действие на патогенные микроорганизмы [2, 13]. Кроме того, *Lactobacillus reuteri* стимулируют продукцию масляной кислоты, которая является источником энергии

для энтероцитов и обладает противоопухолевыми свойствами [4].

При исследовании эффектов *Lb. reuteri* отмечено ингибирование патогенных микроорганизмов при отсутствии влияния на обычную микрофлору кишечника.

В 1985 г. было обнаружено, что *Lactobacillus reuteri* синтезирует несколько уникальных веществ, одним из которых является реутерин – вещество с широким спектром активности в отношении распространённых патогенов желудочно-кишечного тракта [16]. Реутерин, или Я-гидроксипропионовый альдегид (Я-ГПА), – молекула небольших размеров, обладающая уникальными противомикробными свойствами, провоцирующая окислительный стресс в определенных микроорганизмах *in vivo* в процессе метаболизма. Именно с продукцией реутерина связывают защитную функцию *Lactobacillus reuteri* при многочисленных заболеваниях.

Еще один уникальный продукт жизнедеятельности *Lactobacillus reuteri* – реутерицилин – вырабатывается многими штаммами *Lactobacillus reuteri*. Реутерицилин представляет собой циклическую тетрамовую кислоту, активную в первую очередь относительно бактериальной мембраны грамположительных организмов. По сути, он обладает антибактериальной активностью, в связи с чем его относят к группе антибиотикоподобных веществ [21]. *Lb. reuteri* вырабатывают и другие вещества, обладающие противомикробными свойствами, в том числе бактериоцин реутерицин-6 [27].

В литературе имеются данные о том, что отдельные штаммы *Lb. reuteri* способны стимулировать иммунную систему, обладают выраженным гипохолестеринемическим действием. Препараты на его основе применяются для коррекции кишечной микрофлоры, предотвращения развития госпитальных инфекций, профилактики и лечения острых кишечных инфекций. Помимо этого, *Lb. reuteri* является весьма перспективным промышленным видом, так как многие штаммы способны при выращивании на соответствующих средах к продукции значительных количеств различных экзополисахаридов: левана, инулина, глюкана и т. д. [8]. В доступной отечественной и зарубежной литературе нам не удалось найти публикаций, свидетельствующих о выделении от пчелы медоносной *Apis mellifera L.* молочнокислой бактерии *Lactobacillus reuteri*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Впервые от медоносной пчелы *Apis mellifera L.* выделена молочнокислая бактерия *Lactobacillus reuteri*.

2. Проведена молекулярно-генетическая идентификация выделенной молочнокислой бактерии *Lactobacillus reuteri*.

3. Образец молочнокислой бактерии *Lactobacillus reuteri* паспортизирован под номером 2787TL-О и введен в Республиканскую коллекцию промышленных штаммов заквасочных культур и их бактериофагов РУП «Институт мясо-молочной промышленности».

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева, Н.Л. Альтернатива антибиотикам / Н.Л. Андреева // *Международный вестник ветеринарии*. – 2009. – № 2. – С. 10–13.
2. Механизмы биологической активности системы *Lactobacillus reuteri* – реутерин / В.Н. Афоношкин [и др.]. // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. – 2013. – № 4. – С. 70–75.
3. Грязнева, Т.Н. Токсикологическая характеристика пробиотиков для пчел на основе *Vacillus subtilis* и *Vacillus licheniformis* / Т.Н. Грязнева, А.Н. Руденко // *Ветеринария*. – 2015. – № 7. – С. 9–12.
4. Захарова, И.Н. Что мы знаем сегодня о *Lactobacillus reuteri*? / И.Н. Захарова, [и др.] // *Медицинский совет*. – 2018. – № 2. – С. 163–169.
5. Дифенсины в противоинойфекционной защите медоносной пчелы / Р.А. Ильясов [и др.] // *Журнал эвол. биохимии и физиол.* – 2012. – Т. 48, № 5. – С. 425–432.
6. Морфофункциональные и продуктивные показатели пчелиных семей при подкормке пробиотиками / Г.С. Мишуковская [и др.] // *Вестник БГАУ*. – 2011. – № 4. – С. 32–35.
7. Назаров, А.Х. Изучение воспроизводительные и продуктивные показатели пчелиных семей и

морфофункциональное состояние организма пчел / А.Х. Назаров, Р.Б. Косимов // Зооинженерия. – № 2. – 2013. – С. 19–20.

8. Новик, Г.И. Лактобациллы: биотехнологический потенциал и проблемы идентификации / Г.И. Новик, А.В. Сидоренко // Проблемы здоровья и экологии. – 2007. – С. 141–149.

9. Разработка технологического процесса получения бактериального концентрата *Lactobacillus reuteri* / В.Ф. Семенихина [и др.] // Вестник Орловского ГАУ. – 2016. – Т. 62. – № 5. – С. 86–93.

10. Alippi, A.M., Lopez, A.C. Aguilar OM (2002) Differentiation of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, the cause of American foulbrood of honeybees, by using PCR and Restriction Fragment Analysis of genes encoding 16 s rRNA. *Appl Environ Microbiol* 68: 3655–3660.

11. Annelies Billiet, Ivan Meeus, Filip Van Nieuwerburgh, Dieter Deforce, Felix Wackers, Guy Smaghele Colony contact contributes to the diversity of gut bacteria in bumblebees (*Bombus terrestris*), *Insect Science* (2015) 00, 1–8, (doi 10.1111/1744-7917.12284).

12. Audisio, M.C., Terzolo, H.R., Apella, M.C. Bacteriocin from honeybee bee bread *Enterococcus avium*, active against *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71:3373–5.

13. Casas, I.A., Dobrogosz, W.J. Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broad spectrum protection against disease in humans and animals // *Microb. Ecol. Health Dis.* – 2000. – Vol. 12. – No. 4. – P. 247–285.

14. Cox-Foster, D.L., Conlan, S., Holmes EC [et al.] (2007) A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, 318, 283–287.

15. Dillon R.J.V. Dillon M (2004) The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions. *Annu Rev Entomol* 49: 71–92.

16. Dobrogosz W.J., Lindgren S.E. Antibiotic Reuterin // *Biotechnology Advances.* – 1996. – Vol. 14. – No. 3. – P. 364–376.

17. Gilliam M (1979) Microbiology of pollen and bee bread: the genus *Bacillus*. *Apidologie* 10: 269–274.

18. Gilliam M (1997) Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. *Fems Microbiol Lett* 155: 1–10.

19. Gilliam, M., Lorenz, B.J., Richardson, G.V. (1988a) Digestive enzymes and microorganisms in honey bees, *Apis mellifera* - Influence of Streptomycin, age, season and pollen. *Microbios* 55: 95–114.

20. Heather R. Mattila, Daniela Rios, Victoria E. Walker-Sperling, Guus Roeselers, Irene L. G. Newton, Characterization of the Active Microbiotas Associated with Honey Bees Reveals Healthier and Broader Communities when Colonies are Genetically Diverse, Published: March 12, 2012 [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032962> – Дата доступа : 10.10.2018.

21. Hültzel, A., Gönzle, M.G. [et al.] The first low molecular weight antibiotic from lactic acid bacteria: reutericyclin, a new tetramic acid // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2000. – Vol. 39. – P. 2766–2768.

22. Kawasaki, S. *Lactobacillus ozensis* sp. nov., isolated from mountain flowers / Kawasaki S., Kurosawa K., Miyazaki M., Sakamoto M., Ohkuma M., Niimura Y. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2011 Oct; 61(Pt 10):2435–8. doi: 10.1099/ij.s.0.027847-0. Epub 2010 Nov 12. PMID:21075903

23. M. Carina Audisio, Mari'a J. Torres, Daniela C. Sabate [et al.] Properties of different lactic acid bacteria isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut, *Microbiological Research* 166 (2011) 1–13.

24. Naser Tajabadi, Makhdzir Mardan, Mohd Yazid Abdul Manap, Mustafa Shuhaimi, Amir Meimandipour, Leila Nateghi, Detection and identification of *Lactobacillus* bacteria found in the honey stomach of the giant honeybee *Apis dorsata*, Original article. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13592-011-0069-x> – Дата доступа: 2.08.2018.

25. Sandine WE (1979). Role of *Lactobacillus* in the intestinal tract. *J. Food Protect.* 42. – P. 259–262.

26. Syed Ishtiaq Anjum, Abdul Haleem Shah [et al.] Characterization of gut bacterial flora of *Apis mellifera* from north-west Pakistan, *Saudi Journal of Biological Sciences* 25 (2018). – P. 388–392.

27. Toba, T., Samant, S.K., Yoshiko, E., Itoh, T. Reuterin 6, a new bacteriocin produced by *Lactobacillus reuteri* // *Lett. Appl. Microbiol.* – 1991. – Vol. 134. – P. 281–286.

28. Vincent G. Martinson, Bryan N. Danforth, Robert L. Minckley, Olav Rueppell, Salim Tingek and Nancy A. Moran, A simple and distinctive microbiota associated with honey bees and bumble bees *Molecular Ecology* (2011) 20, 619–628 (doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04959.x).

Костюк Н.И., кандидат ветеринарных наук
Стрельчяня И.И., кандидат ветеринарных наук
Кныш Н.В., кандидат ветеринарных наук
Ткалич Е.С., младший научный сотрудник
Барсукова М.В., лаборант

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

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ПЕРЕВИВАЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ЛИНИИ 3 КГ КАК СУБСТРАТА В ПРОИЗВОДСТВЕ БИОПРЕПАРАТОВ

Резюме

В статье представлены результаты оценки морфологии клеточной линии 3 КГ, а также результаты исследований клеточной линии 3 КГ на наличие бактериальных и вирусных агентов: культуральную жидкость клеточной линии 3 КГ исследовали в реакции геммагглютинации, а монослой – в реакции гемадсорбции.

Summary

The article presents the results of the assessment of the morphology of the 3 KG cell line, as well as the results of the studies of the 3 KG cell line for the presence of bacterial and viral agents: the culture fluid of the 3 KG cell line was investigated in the hemagglutination reaction, and the monolayer in the hemadsorption reaction.

Поступила в редакцию 01.10.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие современных методов культивирования клеток имело решающее значение для экспериментальной и диагностической вирусологии. Ни одна современная биопромышленность не может обойтись без группы культивирования клеток. Особое место культура клеток занимает в производстве специфических, лечебно-профилактических и диагностических вирусных препаратов. В настоящее время в ряде стран широко используют постоянные линии клеток для изготовления ветеринарных биопрепаратов [1].

Широкое распространение культур клеток обусловлено прогрессом техники культивирования и появлением все большего числа клеточных линий.

В настоящее время все ведущие биологические научные учреждения усиленно развивают исследования, проводимые на клеточных культурах человека, животных, растений и насекомых.

Важную роль тканевые культуры играют в биотехнологии при производстве вакцин [7].

Использование постоянных линий клеток в качестве субстрата в производстве вирусных вакцин имеет ряд преимуществ:

1. Прижизненное наблюдение за клетками, их морфологическими и биохимическими особенностями различными методами, в том числе с использованием световой микроскопии.

2. Возможность оценки состояния клетки «прижизненно», а не «post factum», как в случае с опытами на животных.

3. Возможность изменения условий культивирования, что дает широкие возможности в оценке факторов, влияющих на клеточный метаболизм.

4. Оценка и получение результатов, при использовании небольшого количества клеточного материала, что снимает проблему использования большого количества животных.

5. Использование клеточной культуры снимает множество этических проблем, связанных как с использованием большого количества клинического материала, так и при тестировании потенциально опасных и токсических веществ.

6. Клеточная культура доступна для различных биохимических манипуляций, в том числе с ядами, гормонами, токсинами, радиоактивными соединениями и т.д.

7. При использовании клеточной культуры оценивается прямое воздействие исследуемого вещества без опасения, что оно будет метаболизировано печенью или почками.

8. Становится возможным рассчитать точную концентрацию тестируемого вещества, вызываемого тот или иной эффект [3].

Одним из важных преимуществ является то, что клеточные культуры не требуют сложных условий культивирования, их можно выращивать в промышленных культиваторах и ферментерах, а маточные раскладки, свободные от контаминации эндогенными и экзогенными вирусами, длительно хранить при низкой температуре. Многие ученые считают, что приготовление вакцин с использованием перевиваемых клеточных линий по сравнению с первичными культурами клеток представляет меньший риск вирусной контаминации [4, 8].

Существенным недостатком клеточных культур, осложняющим их применение, особенно в производстве живых вакцин, является бактериальная, микоплазменная, грибковая и вирусная контаминация.

Проблема контаминации клеточных культур возникла с момента применения культур клеток для производства вирусных вакцин. Источником контаминации бактериями, микоплазмами и вирусами в вакцинах могут быть материалы и условия культивирования (сыворотка, трипсин, воздух, загрязнения в процессе производства). Культура клеток может быть контаминирована различными посторонними вирусами, патогенность которых для животных не всегда известна [5].

В связи с этим необходимо правильно

организовать работу в лабораториях с целью предотвращения контаминаций. Многие часто пренебрегают самыми основными законами и необходимыми правилами ведения клеточных линий и расплачиваются за это неудачами в своей работе.

Перевиваемые культуры клеток проверяют на бактериальную и вирусную контаминацию, используя различные микроскопические, вирусологические, серологические исследования.

Бактериальная контаминация легко обнаруживается по помутнению культуральной среды под микроскопом или при посеве на жидкие и твердые бактериологические питательные среды.

Спонтанные заражения клеточных культур микоплазмами заметить не так просто (особенно на ранних стадиях инфекции), если не применять специальных методов контроля.

Методы контроля должны гарантировать отсутствие в культуре клеток экзогенных и эндогенных вирусов [2].

Целью работы явилось исследование морфологии производственной перевиваемой клеточной линии 3 КГ и контроль наличия посторонних агентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в отделе культур клеток и питательных сред и в отделе болезней птиц, пчел и физико-химических исследований РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского».

Контроль клеточных культур 3 КГ – субстрата производства и контроля ветеринарных иммунобиологических препаратов – исследовали на микробиологическую стерильность, наличие микоплазм и вирусов, также проводили оценку морфологии клеток.

Исследования проводили в несколько этапов.

На первом этапе суспензию клеток исследовали на микробиологическую стерильность и наличие микоплазм.

Исследование контаминации суспензии клеток 3 КГ бактериями и грибами

проводили путем посева по 1,0 см³ в пробирки агаром Сабуро и тиогликолевой средой. Посевы делали в две пробирки с каждой питательной средой и выдерживали на агаре Сабуро в термостате при температуре +20 °С, а на тиогликолевой среде – при температуре +35 °С в течение 14 суток.

Исследование контаминации суспензии клеток 3 КГ микоплазмой проводили путем посева по 10,0 см³ на 100,0 см³ жидкой среды PPLO. При этом проводили посев по 0,2 см³ на чашку Петри с твердой средой PPLO. Жидкую среду инкубируют в течение 21 дня, твердую среду – 14 дней. На 2–4 день после инокуляции проводили пересевы по 0,2 см³ с жидкой среды PPLO на чашку Петри с твердой средой PPLO. Данную процедуру повторяли на 6–8 день, на 13–15 день и на 19–21 день испытания.

Суспензия клеток считается стерильной, если в течение указанного срока отсутствует рост бактерий, грибов и микоплазм.

На втором этапе проверяли состояние монослоя интактных клеток исследуемой линии в течение 14 суток.

Контролю подвергали клеточную линию 3 КГ. Культуру клеток выращивали в пластиковых культуральных флаконах объемом 75 см² при температуре +37 °С. Для выращивания использовали ростовую питательную среду ФМГ-С : ДМЕМ (3:1) с добавлением 10 % сыворотки крови крупного рогатого скота. Ежедневно вели наблюдение за качеством сформировавшегося монослоя визуально и с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100 в фазовом контрасте (объектив 10х).

На третьем этапе культуральную жидкость, полученную от культивируемой в течение 14 суток клеточной линии 3 КГ, исследовали в капельной реакции гемагглютинации с эритроцитами петуха, а монослой – в реакции гемадсорбции.

Для этого из культурального флакона удаляли питательную культуральную среду, монослой клеток отмывали 0,85 % натрия хлорида при температуре 20–25 °С. В матрас с клеткой вносили 0,25 % взвесь эритроцитов, в объеме достаточном, чтобы

покрыть весь клеточный монослой. Культуральные флаконы инкубировали 30 минут при температуре +4 °С, а затем 30 минут при температуре +20–25 °С. Из культурального флакона удаляли взвесь эритроцитов и трижды отмывали 0,85 % раствором натрия хлорида. Клеточный монослой исследовали под микроскопом Nikon Eclipse TS100.

На четвертом этапе пробы культуральной жидкости исследовали в трех видах клеточных культур (Vero, ВНК-21, МДБК).

Для этого из всех испытуемых культуральных флаконов сливали равные объемы проб и объединяли. В три различные тест-культуры (Vero, ВНК-21, МДБК) вносили одну часть контролируемой среды (смесь проб) и четыре части свежей питательной среды. Инкубировали при температуре +37 °С. Наблюдение за качеством сформировавшегося монослоя вели визуально и с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100 в фазовом контрасте (объектив 10х) в течение 14 суток. На 6 сутки после инокуляции в тест-культурах проводили смену среды. В конце срока культивирования монослоем изучали в реакции гемадсорбции, а культуральную жидкость – в реакции гемагглютинации с эритроцитами морской свинки.

На пятом этапе проводили контроль жизнеспособных клеток 3 КГ на SPF-куриных эмбрионах.

Для этого культуру клеток 3 КГ в концентрации 1х10⁶ вводили 10 SPF-эмбрионам 11-суточного возраста в аллантоисную полость. За эмбрионами вели наблюдение в течение 5 суток. По истечении данного срока наблюдения аллантоисную жидкость исследовали в реакции гемагглютинации с эритроцитами петуха.

На шестом этапе проводили оценку морфологии клеток 3 КГ. Для этого выращивали культуру клеток на предметных стеклах, используя ростовую питательную среду ФМГ-С: ДМЕМ (3:1) в течение 72 часов при температуре +37 °С. Затем фиксировали препарат этанолом в течение 10 минут при температуре +20–25 °С, после

чего клетки окрашивали неразведенным красителем Гимза, промывали монослой в деионизированной воде и исследовали клетки под микроскопом, пока монослой оставался влажным.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Суспензия клеток 3 КГ стерильна, т.к. в течение всего срока исследования на питательных средах (МПА, агар Сабуро, МПБ, тиогликоливая среда, PPLO) отсутствовал рост бактерий, грибов и микоплазм.

Результаты ежедневного наблюдения за качеством сформировавшегося монослоя визуально и с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100 в фазовом контрасте (объектив 10x) показали, что изменений состояния монослоя (дегенеративных изменений, симпластов и т.д.) не наблюдалось. При просмотре культуральных флаконов под микроскопом на 14 сутки наблюдали 100 %-ный клеточный монослой. При этом клеточная линия 3 КГ имела типичную для данной линии морфологию (фибробластоподобный тип роста) и сохраняла стабильность биологических свойств в течение срока культивирования (рисунок 1).



Рисунок 1. – Перевиваемая культура клеток 3 КГ. Клеточный монослой через 14 суток культивирования. Объектив 10x

При постановке капельной реакции гемагглютинации с эритроцитами петуха в исследуемой культуральной жидкости агглютинация отсутствовала.

Учет реакции гемадсорбции проводили под микроскопом после непродолжительного покачивания культурального флакона для отделения неадсорбированных

эритроцитов от поверхности клеток. Результаты исследований показали, что адсорбция эритроцитов на культуре клеток не наступила и они свободно плавали в поле зрения микроскопа (рисунок 2).

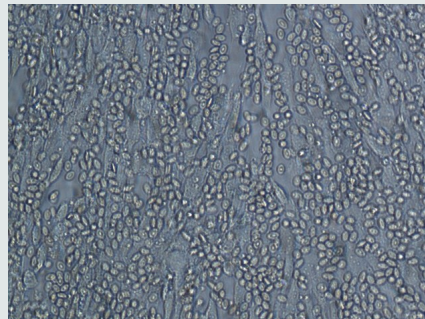


Рисунок 2. – Отрицательная реакция гемадсорбции. Свободно плавающие эритроциты в поле зрения микроскопа. Объектив 20x

Результаты исследования культуральной жидкости и монослоя в трех видах клеточных тест-культурах (Vero, ВНК-21, МДБК) показали отсутствие агглютинации и адсорбции эритроцитов.

Контроль клеточной линии 3 КГ на SPF-куриных эмбрионах показал отсутствие агглютинации в аллантаической жидкости.

Оценка морфологии клеток показала, что клетки имели фибробластоподобный тип роста, цитоплазма и ядро ориентированы по длинной оси клетки. Цитоплазма с характерной зернистостью. Ядро содержит 1–4 ядрышка. Клетки прозрачны, расположены параллельными группами, ориентированными в различных направлениях.

Результаты окраски по Гимза представлены на рисунке 3.

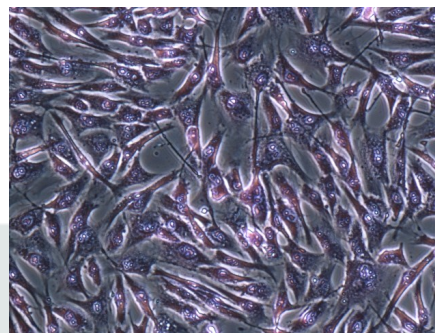


Рисунок 3. – Окраска по Гимза клеток 3 КГ. Объектив 20x

Как видно из рисунка 3, при окрашивании клеток по Гимза ядро окрасилось в розовый цвет, ядрышки – в темно синий, а цитоплазма – в бледный серо-голубой цвет.

ВЫВОДЫ

1. Клеточная культура 3 КГ – субстрат производства и контроля ветеринарных иммунобиологических препаратов – стерильна (отсутствует рост бактерий, грибов и микоплазм).

2. Клеточная линия 3 КГ имела типичную для данной линии морфологию (фибробластоподобный тип роста) и сохраняла стабильность биологических свойств в течение срока культивирования.

3. В культуральной жидкости отсутствует агглютинация эритроцитов, а в монослое – адсорбция эритроцитов.

4. В трех различных тест-культурах (Vero, ВНК-21, МДБК) отсутствует агглютинация и адсорбция эритроцитов.

5. В аллантоисной жидкости отсутствует агглютинация при контроле клеточной линии 3 КГ на SPF-куриных эмбрионах.

6. Клетки имеют фибробластоподобный тип роста. При окраске по Гимза ядро окрасилось в розовый цвет, ядрышки – в темно синий, а цитоплазма – в бледный серо-голубой цвет.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фрешни, Р.Я. Культура животных клеток: практическое руководство / Р.Я. Фреши; пер. 5-го англ. изд. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний. 2014. – 691 с.

2. Вечканов, Е.М. Клеточная инженерия: учебное пособие / Е.М. Вечканов, И.А. Сорокина. – Ростов-на-Дону, 2012. – 136 с.

3. Фадеев, Ф.А. Возможности использования технологии автоматизированного культивирования при получении клеточных линий для терапевтического применения / Ф.А. Фадеев, Д.В. Луговец, М.В. Улитко // Клеточные технологии – практическому здравоохранению: сборник материалов IV научно-практической конференции. – Екатеринбург: Вестник уральской медицинской академической науки, 2015. – С. 57–62.

4. Хапчаев, Ю.Х. Разработка методов получения и культивирования первичных и перевиваемых культур клеток животных для производства вирусных вакцин: автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.06. / Ю.Х. Хапчаев. – М., 2003. – 47 с.

5. Опыт создания банка авторских линий перевиваемых клеток и их применение в вирусологической практике / Л.Л. Миронова [и др.]. // Биотехнология. – 2000. – № 6. – С. 41–46.

6. Дьяконов, Л.П. Животная клетка в культуре (Методы и применение в биотехнологии) / Л.П. Дьяконов, В.И. Ситьков; под ред. проф. Л.П. Дьяконова, проф. В.И. Ситькова. – М.: Компания Спутник+, 2000. – 400 с.

7. Колокольцева, Т.Д. Культуры клеток человека и животных: выделение, культивирование, криоконсервация и контроль / Т.Д. Колокольцова, И.Н. Сабурова, А.А. Кубатиев // Патогенез. – 2015. – Т. 13. – Ч. 2. – С. 50–65.

ЭНТЕРОПОЛИСОРЬ

диарея

• показание к применению – диарея и пищевые интоксикации

Свежее решение для защиты ваших животных

• обладает сорбционным и детоксикационным действием



**ПАМЯТИ ДОКТОРА ВЕТЕРИНАРНЫХ НАУК,
ПРОФЕССОРА
ОБЪЕДКОВА ГЕОРГИЯ АНТОНОВИЧА
(1930–2018 гг.)**

Ушел из жизни один из старейших научных сотрудников РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» доктор ветеринарных наук, профессор Обьедков Георгий Антонович.

Георгий Антонович Обьедков родился 19 февраля 1930 года в селе Октябрьское Октябрьского района Оренбургской области Российской Федерации.

После окончания в 1948 г. средней школы № 30 в г. Оренбурге поступил на ветеринарный факультет Оренбургского сельскохозяйственного института, который закончил в 1953 г. В том же году поступил в аспирантуру при кафедре клинической диагностики Московской ветеринарной академии им. К.И. Скрябина, которую окончил в 1957 году, защитил кандидатскую диссертацию и был направлен на работу в Белорусский научно-исследовательский ветеринарный институт (БелНИВИ).

В БелНИВИ Обьедков Г.А. работал с 1957 по 1961 гг. в должности младшего, с 1962 по 1966 гг. – в должности старшего научного сотрудника. С 1966 по 1995 гг. – заведующий отделом по изучению бруцелллёза и туберкулеза животных. Одновременно с 1968 по 1984 гг. работал заместителем директора института по научной работе. С 1995 по 2005 гг. – заведующий научно-производственной лабораторией технологии ветеринарных препаратов, с 2006 по 2013 гг. – главный научный сотрудник отдела эпизоотологического и иммунологического мониторинга (руководитель группы). С 2014 г. – главный научный сотрудник группы научно-технической информации, сертификации и патентования.



Стоят: Красочко П.А. – доктор ветеринарных наук, профессор, Румачик И.И. – доктор ветеринарных наук, Бирман Б.Я. – доктор ветеринарных наук, профессор, Лысенко А.П. – доктор ветеринарных наук, профессор, Лях Ю.Г. – доктор ветеринарных наук, Ястребов А.С. – доктор ветеринарных наук; сидят: Линник В.Я. – доктор ветеринарных наук, профессор, Богуш А.А. – доктор ветеринарных наук, профессор, Обьедков Г.А. – доктор ветеринарных наук, профессор, Якубовский М.В. – доктор ветеринарных наук, профессор, Андросик Н.Н. – доктор ветеринарных наук

Решением ВАК при Совете Министров СССР от 15 мая 1965 г. Обьедков Г.А. утвержден в ученом звании старшего научного сотрудника по специальности «Ветеринарная мик-

робиология». Решением ВАК при Совете Министров СССР от 19 января 1990 г. ему присуждена ученая степень доктора ветеринарных наук. Решением ВАК Республики Беларусь от 9 июня 1999 г. Обьедкову Г.А., присвоено ученое звание профессора по специальности «Ветеринарная медицина».

По руководством Обьедкова Г.А. разработаны новые методы и средства диагностики и профилактики туберкулеза животных, внедрение которых позволило ликвидировать к 1983 году эпизоотии бруцеллеза крупного рогатого скота, свиней, овец и к 1995 году – эпизоотию туберкулеза крупного рогатого скота на территории Республики Беларусь.

Георгий Антонович отличался необычным трудолюбием, требовательностью к себе и своим подчиненным, глубокими знаниями научных проблем, стоящих перед ветеринарной наукой и практикой. Это был грамотный ученый и умный человек, обладающий большим жизненным опытом и опытом проведения научных исследований, что позволяло ему профессионально и грамотно решать непростые проблемы, стоящие перед ветеринарной медициной.

Обьедков Г.А. – автор 170 печатных изданий, в т.ч. 25 – учебно-методического, 145 – научно-исследовательского характера, автор четырех монографий, двух изобретений и десяти технических нормативно-правовых актов (ТНПА).

За успешную научную работу Обьедков Г.А. награжден медалью «За трудовую доблесть» (1966 г.), юбилейной медалью «За доблестный труд в ознаменование 100-летия со дня рождения В.И. Ленина» (1970 г.), орденом «Знак Почета» (1971 г), Почетной грамотой Верховного Совета БССР (1978 г.), серебряной медалью ВДНХ СССР, медалью «Ветеран труда».

Георгий Антонович Обьедков умер 16 сентября 2018 г. В коллективе ученых РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» Георгий Антонович пользовался заслуженным авторитетом и уважением. Сотрудники института чтут память о нем – о человеке высоких моральных качеств и талантливом ученом.



Обьедков Г.А., Глушенкова Т.А.

СОБОЛЕЗНОВАНИЕ

16 сентября 2018 года на 88 году ушел из жизни известный ученый и организатор науки **Георгий Антонович Обьедков**, доктор ветеринарных наук, профессор. Георгий Антонович прошел славный жизненный путь от младшего научного сотрудника до заведующего отделом по борьбе с бруцеллезом и туберкулезом в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», в течение 15 лет работал заместителем директора по научной работе, главным научным сотрудником института.

За годы работы Георгий Антонович внес значительный вклад в решение проблем диагностики, профилактики и лечения незаразных болезней животных, туберкулеза и бруцеллеза.

Георгий Антонович занимал активную жизненную позицию, он автор свыше 200 научных работ, подготовил 5 кандидатов наук.

Скорбим в связи с кончиной Обьедкова Г.А., выражаем глубокие соболезнования родным и близким.

Профессорско-преподавательский коллектив УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины».

