

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:

Ларькова А.Е.

Лукьянова И.А.

Пунько С.Г.

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, профессор (г. Витебск)

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Все статьи рецензируются

© «Экология и животный мир»

СОДЕРЖАНИЕ

Хоченков А.А. ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА И ПРОДУКТИВНОСТЬ СВИНОМАТОК В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СЕЗОНА ГОДА	3
Борисовец Д.С., Журавлева Е.С., Зуйкевич Т.А., Красочко П.А., Кузьминский И.И., Степанова Е.А., Толяронок Г.Е. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА «ЭНДОМЕТРАФАГ» НА ОБМЕННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ПОСЛЕРОДОВЫХ ЭНДОМЕТРИТАХ У КОРОВ	9
Ананчиков М.А., Красникова Е.Л., Ткалич Е.С., Гордиевская О.Н., Тяпша Ю.И. РОЛЬ ХЛАМИДИЙ В ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА	13
Тяпша Ю.И., Дубаневич О.В., Андрусевич А.С., Стрельчяна И.И. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕКЦИЯ ГЕНОМА ШТАММА <i>SALMONELLA DUBLIN</i> И ЕГО БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА	18
Якубовский М.В. ПАРАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ КОШЕК (АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР)	26
Дубина И.Н. ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ЦИСТИЦЕРКОВ (<i>C. PISIFORMIS</i> , <i>C. TENUICOLLIS</i>) В ПРОЦЕССЕ ОНТОГЕНЕЗА	33
Бирюк Е.Н., Тарашкевич Ю.С., Кручёнок Т.В., Черник М.И., Захарик Н.В., Гуринович О.Л., Тяпша Ю.И. ВЫДЕЛЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИЗОЛЯТОВ <i>LACTOBACILLUS APIS</i>	43
Каменская Т.Н., Черник М.И., Лукьянчик С.А., Кривенок Л.Л., Хендогина О.В. СРЕДСТВО ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ «КРИОКС» – ЭФФЕКТИВНЫЙ ДЕЗИНФЕКТАНТ ДЛЯ САНАЦИИ ОБЪЕКТОВ ВЕТЕРИНАРНОГО НАДЗОРА	52
Борисовец Д.С., Журавлева Е.С., Морозов А.М., Кривец Д.А. ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ РОДА <i>BACILLUS SPP.</i> ИЗ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ПРЭСНОВОДНЫХ ВОДОЕМОВ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ	59
Степанова Е.А., Кузьминский И.И., Лиленко А.В. ВОЗБУДИТЕЛИ МАСТИТА У КОРОВ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИМИКРОБНОЙ ТЕРАПИИ	68
Струк М.С. ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА ПРИ ВВЕДЕНИИ ПРЕПАРАТА «ИММУНОНАНОЦИНК»	73
Волосевич Д.П., Ревякин И.М. ОСОБЕННОСТИ МАКРОМОРФОЛОГИИ КИШЕЧНИКА АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПИЧЕСКИХ ОКРАСОВ	78

CONTENTS

Hochencov A.A. FEATURES OF METABOLISM AND PRODUCTIVITY SOWS DEPENDING ON SEASON OF THE YEAR	3
Borisovets D.S., Zhuravleva E.S., Zuykevich T.A., Krasochko P.A., Kuzminsky I.I., Stepanova E.A., Tolyaronok G.E. STUDY OF THE EFFECT OF THE PREPARATION «ENDOMETRAFAG» ON METABOLIC PROCESSES IN POSTNATAL ENDOMETRITIS IN COWS	9
Ananchikov M.A., Krasnikova E.L., Tkalich E.S., Gordievskaya O.N., Tyapsha Yu.I. ROLE OF CHLAMYDIA IN THE ETHIOLOGICAL STRUCTURE OF CATTLE MORBIDITY	13
Tyapsha Yu.I., Dubanovich O.V., Andrusевич A.S., Strelchenya I.I. MOLECULAR-GENETIC DETECTION OF THE <i>SALMONELLA DUBLIN</i> STRAW GENOM AND ITS BIOCHEMICAL PROPERTIES	18
Yakubovsky M.V. PARASITIC DISEASES OF CATS (ANALYTICAL REVIEW)	26
Dubina I.N. CHANGE OF THE MORPHOLOGICAL STRUCTURE OF THE CYSTICERCUS (<i>C. PISIFORMIS</i> , <i>C. TENUICOLLIS</i>) IN THE PROCESS OF ONTOGENESIS	33
Biryuk E.N., Tarashkevich Yu.S., Kruchenok T.V., Chernik M.I., Zakharik N.V., Gurinovich O.L., Tyapsha Yu.I. ISOLATION AND MOLECULAR GENETIC IDENTIFICATION OF ISOLATES OF <i>LACTOBACILLUS APIS</i>	43
Kamenskaya T.N., Chernik M.I., Lukyanchik S.A., Krivenok L.L., Hendogina O.V. MEANS OF DISINFECTANT «CRYOX» – EFFECTIVE DISINFECTANT FOR SANITATION OF OBJECTS OF VETERINARY SURVEILLANCE	52
Barysavets D.S., Zhuravleva E.S., Morozov A.M., Krivets D.A. ISOLATION OF BACTERIAL STRAINS OF THE GENUS <i>BACILLUS SPP.</i> FROM BOTTOM SEDIMENTS OF FRESHWATER PONDS OF THE REPUBLIC OF BELARUS AND STUDY OF THEIR BIOLOGICAL PROPERTIES	59
Stepanova E.A., Kuzminski I.I., Lilenko A.V. THE INFECTIOUS AGENT OF MASTITIS OF COWS AND EFFICIENCY OF ANTIMICROBIAL THERAPY	68
Struk M.S. THE STUDY OF TOXICITY OF NANOPARTICLES OF THE ZINC WITH THE INTRODUCTION OF THE DRUG «IMMUNONANOZINC»	73
Volosevich D.P., Revyakin I.M. FEATURES OF THE INTESTINAL MACROMORPHOLOGY OF THE AMERICAN MINK OF VARIOUS GENOTYPICAL COLORS	78

Компьютерная верстка: Лукьянова И.А.

Подписано в печать 21.11.2019 г.

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

Уч.-изд. л. , усл. печ. л. 7,9 Тираж 100 экз. Заказ №

220003, г. Минск, ул. Брикета, 28. E-mail: biev@m@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.

Хоченков А.А., доктор сельскохозяйственных наук, доцент

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

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА И ПРОДУКТИВНОСТЬ СВИНОМАТОК В ЗАВИСИМОСТИ ОТ СЕЗОНА ГОДА

Резюме

В ходе проведенных исследований установлено, что определенное влияние на обмен веществ в организме супоросных свиноматок и их продуктивность оказывает сезон года. Воздействие на организм животных оказывается опосредовано, через корма. Снижение качества кормовых средств в процессе хранения (повышение концентрации продуктов окисления и гидролиза жиров, накопление вторичных метаболитов плесневых грибов) понизило продуктивность свиноматок (среднюю массу 1 поросенка при рождении, выход деловых поросят в расчете на 1 опорос, многоплодие), а также увеличило распространенность патологий белкового и минерального обмена веществ организма.

Summary

During the researches it was determined that season of the year definitely influenced the metabolism of pregnant sows and their productivity. The organism is influenced not indirectly but via forages. Decrease of feedstuff quality in the storage process (increase of oxidation products concentration and fat hydrolysis, storage of secondary metabolites of molds) decreased productivity of sows (multiple pregnancy, average weight of 1 piglet at birth, litter outcome per 1 farrow), and increased pathology of protein and mineral metabolism.

Поступила в редакцию 30.10.2018 г.

ВВЕДЕНИЕ

Воспроизводство стада в условиях свиноводческих комплексов является одним из уязвимых мест промышленной технологии производства свинины [1, 2, 5, 6]. Накопленные к настоящему времени данные науки и практики показывают, что при разведении свиней на крупных промышленных комплексах, где большая концентрация поголовья в помещениях и круглогодичное безвыгульное содержание, значительная часть свиноматок имеет пониженные воспроизводительные способности, приносит слабый, зачастую маложизнеспособный приплод [3, 8, 12].

При изучении причин создавшегося в промышленном свиноводстве положения мы обратили внимание, что ему сопутствуют определенные нарушения обмена веществ, имеющие достаточно массовое проявление. В отличие от откорма, воспроизводство стада и выращивание молодняка во

многим зависит от сезона года [5, 11]. Такие показатели, как уровень оплодотворенности, масса и сохранность поросят при рождении, наиболее высоки в весенних опоросах, а низкие – осенью. Однако эту разницу ставить в зависимость только от температурно-влажностного режима помещений, по нашему мнению, некорректно. Ведь в современных свиноводческих комплексах микроклимат, как правило, поддерживается в заданных согласно нормативам пределах, и его относительно небольшие изменения не могут значительно менять продуктивность маточного стада. Гораздо более вероятна версия о влиянии сезона на организм свиноматок опосредованно, через корма. Опираясь на полученные в наших исследованиях данные и научную литературу, мы выдвинули гипотезу, что одной из основных причин неудовлетворительных воспроизводительных качеств свиней может быть нехватка или избыток в

рационе определенных биологически активных веществ, что обусловлено сезонными изменениями, а также наличие в нем нежелательных или токсичных веществ. Такими наиболее вероятными токсическими веществами являются продукты перекисного окисления жиров кормов и микотоксины, продуцированные плесенями хранилищ – *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* – афлатоксин В₁, охратоксин А, Т-2 токсин.

Цель наших исследований – изучить наиболее характерные нарушения обмена веществ в организме свиноматок и определить параметры их продуктивности в зависимости от качества кормов, обусловленного сезоном года.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

С этой целью в ОАО «Сож» Гомельского района был проведен научно-хозяйственный опыт. В рамках исследований каждый сезон года формировалась контрольная группа (по 10 голов) клинически здоровых основных свиноматок (по 3-му опоросу), в которой на протяжении репродуктивного цикла изучались показатели обмена веществ по гематологическим показателям (общий белок сыворотки крови, альбумины, общий кальций, неорганический фосфор, резервная щелочность), а также последующая продуктивность (многоплодие, выход деловых поросят, средняя масса поросенка при рождении). Опоросы

получали весной (в апреле), летом (в июле), осенью (в октябре) и зимой (в январе). В период супоросности животные потребляли комбикорма СК-1, соответствующие требованиям [10]. Для определения показателей безопасности были отобраны репрезентативные образцы рационов. В образцах комбикормов определяли кислотное и перекисное число жира, а также микотоксины, продуцируемые плесневыми грибами хранилищ (Т-2 токсин, афлатоксин В₁, охратоксин А) [7]. Пробы крови от свиноматок брали за полтора месяца до ожидаемого опороса. Определение показателей обмена веществ осуществлялось в лаборатории свинокомплекса ОАО «Сож», Гомельской областной ветеринарной лаборатории. Такие показатели безопасности, как кислотное и перекисное числа, определялись в лаборатории свинокомплекса, микотоксины – в Гомельской областной ветеринарной лаборатории, ЦНИЛ УО «ВГАВМ».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Биохимические показатели крови животных в условиях промышленных комплексов характеризуются значительной вариабельностью, а часть из них – отклонениями от норм. Причем это относится как к показателям белкового метаболизма, так и минерального обмена. Просматривается определенная тенденция влияния на обмен веществ сезонных изменений (таблица 1).

Таблица 1. – Показатели обмена веществ супоросных свиноматок

Показатели	Среднее содержание	Лимиты	% несоответствия нормативам
1	2	3	4
Зимний период			
Общий белок, г/л	83,8±2,19	76,6–97,4	20
Альбумины, %	46,8±2,74	34–57	30
Мочевина, ммоль/л	4,1±0,20	2,9–5,1	10
Общий кальций, ммоль/л	2,5±0,13	1,8–3,0	30
Неорганический фосфор, ммоль/л	2,0±0,09	1,63–2,47	30
Резервная щелочность, об. % CO ₂	50,6±0,38	41,6–54,4	0

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
Весенний период			
Общий белок, г/л	85,8±2,44	74,0–97,0	40
Альбумины, %	44,9±3,19	30–56	40
Мочевина, ммоль/л	4,3±0,17	3,6–5,3	0
Общий кальций, ммоль/л	2,4±0,12	1,8–2,9	30
Неорганический фосфор, ммоль/л	2,0±0,09	1,6–2,51	40
Резервная щелочность, об. % CO ₂	43,0±0,31	37,4–51,5	10
Летний период			
Общий белок, г/л	87,8±2,18	80,5–99,8	50
Альбумины, %	42,9±3,26	28–57	40
Мочевина, ммоль/л	4,8±0,31	3,7–6,0	0
Общий кальций, ммоль/л	2,3±0,10	1,7–2,9	60
Неорганический фосфор, ммоль/л	2,0±0,09	1,63–2,45	50
Резервная щелочность, об. % CO ₂	39,3±0,32	34,3–50,8	20
Осенний период			
Общий белок, г/л	83,9±1,30	80–92	50
Альбумины, %	45,6±2,53	32–58	50
Мочевина, ммоль/л	4,3±0,22	3,4–5,8	0
Общий кальций, ммоль/л	2,5±0,09	2,2–3,0	70
Неорганический фосфор, ммоль/л	2,1±0,07	1,67–2,47	60
Резервная щелочность, ммоль/л	47,2±0,35	41,7–52,0	0

Наиболее благоприятным периодом года, когда отмечено меньше всего обменных нарушений, была зима. В зимний период 20 % проб крови от животных контрольной группы не соответствовало нормам по содержанию общего белка, 30 % – общего кальция, 30 % – неорганического фосфора. Наиболее неблагоприятным периодом у свиноматок, когда отмечались особенные массовые нарушения метаболизма, была осень. Тогда содержание общего белка в сыворотке крови не соответствовало норме в 50 % проб, общего кальция – в 70 %, а неорганического фосфора – в 60 %. Несмотря на определенные тенденции к улучшению показателей метаболизма животных в зимне-весенний период, когда в рацион включаются корма, в первую очередь зерновые, нового урожая, можно отметить достаточно широкую распространенность обменных нарушений. По нашему мнению, это может быть вызвано одной из следующих причин или их сочетанием.

1) Минеральный дисбаланс вследствие дефицита в рационах витамина Д. В условиях промышленной технологии жи-

вотные лишены естественной солнечной инсоляции, которая превращает в коже провитамин Д в его активную форму. Несбалансированность рациона по этому элементу питания отражается на показателях крови, крепости костяка и продуктивности. Содержание кальциферола в организме свиней полностью зависит от его концентрации в комбикорме. Любая погрешность при дозировании, смешивании премикса или комбикорма, а также снижении активности самого витамина ведет к нарушению кальциево-фосфорного обмена.

2) Наряду с зерновыми и протеиновыми кормами, источником фосфора являются кормовые фосфаты. В нашей республике из кормов этой группы наиболее распространен трикальцийфосфат, который в физиологическом плане (низкая доступность фосфора) значительно уступает другим фосфатам. Нормативная документация на кормовые фосфаты, разработанная еще в 80-е годы, не включает тех параметров контроля качества, которые требуются согласно современным научным данным.

3) Нарушения минерального обмена

в организме свиноматок могут быть также связаны с сепарированием и самосортированием компонентов комбикорма. Основные объемы комбикормов для взрослых половозрастных групп свиней поступают на комплексы с целью снижения издержек (на 3–4 %) в негранулированном виде. Поскольку удельный вес фосфатов в 2–2,5 раза выше, чем большинства других компонентов комбикормов, то они при транспортировке и хранении оседают в нижних слоях смеси, делая комбикорма неоднородными по макроэлементам.

Одним из наиболее важных компонентов рационов, источником энергии и резервуаром жирорастворимых витаминов являются липиды. Они содержатся практически во всех составляющих рационов. Однако это самый нестойкий нутриент кормов. Под воздействием света, температу-

ры, прооксидантов (ионы металлов), липолитических ферментов, микроорганизмов происходит гидролиз и окисление жиров с образованием токсичных продуктов. В качестве лабораторных показателей, достаточно объективно характеризующих свежесть и безопасность жиров, в широкой животноводческой практике используют кислотное и перекисные числа. Токсическое воздействие на организм животных оказывают микотоксины, продуцируемые плесенью хранения, которые способны даже в ничтожно малых концентрациях воздействовать на органы и ткани. В наших исследованиях просматривается определенная связь между увеличением этих показателей, характеризующих безопасность рационов, и метаболизмом организма животных (таблица 2).

Таблица 2. – Показатели безопасности комбикормов СК-1

Показатели	Среднее значение	Лимиты	% несоответствия нормативам
Зимний период			
Кислотное число, мг КОН	19,5±1,59	12,6–28,1	0
Перекисное число жира, % I	0,10±0,009	0,07–0,15	0
T-2 токсин, мг/кг	0,02±0,015	0–0,086	0
Афлатоксин В ₁ , мг/кг	0,002±0,0011	0–0,007	0
Охратоксин, мг/кг	0,006±0,0017	0–0,01	0
Весенний период			
Кислотное число, мг КОН	24,9±1,53*	17,5–32,4	10
Перекисное число жира, % I	0,09±0,014	0,04–0,14	0
T-2 токсин, мг/кг	0,05±0,12	0,013–0,09	0
Афлатоксин В ₁ , мг/кг	0,004±0,0014	0–0,0087	0
Охратоксин, мг/кг	0,012±0,0016	0,004–0,015	0
Летний период			
Кислотное число, мг КОН	26,4±1,22*	19,8–33,4	20
Перекисное число жира, % I	0,16±0,023	0,02–0,27	0
T-2 токсин, мг/кг	0,06±0,014	0,01–0,095	0
Афлатоксин В ₁ , мг/кг	0,005±0,0017	0–0,0098	0
Охратоксин, мг/кг	0,011±0,0022	0,003–0,016	0
Осенний период			
Кислотное число, мг КОН	23,8±1,38	17,8–30,6	10
Перекисное число жира, % I	0,11±0,016	0,05–0,18	0
T-2 токсин, мг/кг	0,01±0,005	0–0,028	0
Афлатоксин В ₁ , мг/кг	0,001±0,0004	0–0,0028	0
Охратоксин, мг/кг	0,007±0,0041	0–0,024	10

Примечание – * P<0,05

Согласно нашим исследованиям, наиболее высокие показатели кислотности жиров рациона отмечены в летний и осенний период, что, по нашему мнению, связано с высокой температурой наружного воздуха, ускоряющей реакции перекисного окисления жиров. Особенно сезон года отразился на кислотном числе. Так, зимой оно было статистически достоверно ниже, чем весной и летом ($P < 0,05$). В летний период 20 % образцов комбикорма по этому показателю не соответствовало нормативу

[9]. Содержание микотоксинов, продуцируемых плесенью хранилищ (Т-2 токсин, афлатоксин В₁, охратоксин А), не превышало предельно допустимых уровней.

Ухудшение процессов обмена веществ в организме свиноматок не могло не отразиться на их продуктивности, особенно на таком достаточно тонком и уязвимом процессе, как воспроизводство. Данные по контрольным группам приведены в таблице 3.

Таблица 3. – Показатели продуктивности свиноматок

Показатели	Среднее значение	Лимиты	Коэффициент вариации, %
Зимний период			
Многоплодие, гол./опорос	10,7±0,49	9–14	14,6
Выход дел. поросят на 1 опорос	9,5±0,16	9–10	5,5
Масса 1 поросенка при рождении, кг	1,4±0,017	1,0–2,1	4,8
Весенний период			
Многоплодие, гол./опорос	11,1±0,27	10–12	7,9
Выход дел. поросят на 1 опорос	10,2±0,20	9–11	6,2
Масса 1 поросенка при рождении, кг	1,4±0,15	1–2,2	4,4
Летний период			
Многоплодие, гол./опорос	10,5±0,49	8–13	15,1
Выход дел. поросят на 1 опорос	9,3±0,29	8–11	10,2
Масса 1 поросенка при рождении, кг	1,3±0,13	1–2,0	3,7
Осенний период			
Многоплодие, гол./опорос	10,2±0,35	8–12	11,1
Выход дел. поросят на 1 опорос	9,1±0,23*	8–10	8,1
Масса 1 поросенка при рождении, кг	1,2±0,14	1–2,0	4,1

Примечание – * $P < 0,05$

Наиболее высокая продуктивность свиноматок отмечалась в весенний период года, а самая низкая – осенью. В весенний период средний выход деловых поросят был выше, чем осенью, на 1,1 головы ($P < 0,05$), чем летом – на 0,8 головы ($P < 0,05$) и чем зимой – на 0,7 головы. В весенний и зимний периоды также отмечалась максимальная средняя живая масса поросят при рождении – 1,4 кг, осенью она составляла 1,2 кг.

Разница в продуктивности животных и в распространенности нарушений обмена

веществ, по нашему мнению, объясняется разным качеством кормов. С ухудшением экологической обстановки в агробиоценозах, культивированием урожайных, но слабоустойчивых к инфекциям различной природы сортов растений возросла доля в кормовом балансе фуража с пониженными потребительскими качествами. Произведенное по интенсивным технологиям и убранное высокопроизводительной техникой зерно имеет микротрещины, менее устойчиво к плесневым грибам, поражающим корма в период хранения. В теплый

период года активизируются окислительные процессы липидов кормовых средств. Необходимо отметить синергизм этих нежелательных для организма процессов. Продукты гидролиза и окисления липидов, как и продуценты плесневых грибов – микотоксины, угнетают протекание биохимических реакций и физиологических процессов в организме, снижают устойчивость животных к неблагоприятным факторам окружающей среды [4]. Продукты окисления липидов легко проникают в кровь, снижают концентрацию гемоглобина, витаминов А, Е, С в крови и печени, разрушают мембраны клеток. Для уменьшения негативного влияния сезонного изменения кормовых средств в процессе хранения под воздействием различных факторов окружающей среды, по нашему мнению, необходимо использовать антиоксидантные препараты, ингибирующие процессы окисления и гидролиза жиров, а также применять антимикотоксические мероприятия. К ним относятся своевременная очистка и сушка

произведенного и реализованного зерна, контроль хранения зернофуража и использование превентивных мероприятий для предотвращения потери его качества, рациональное использование ингибиторов плесеней и специальных препаратов с адсорбционными свойствами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований установлено, что определенное влияние на метаболизм супоросных свиноматок и их продуктивность оказывает сезон года. Влияние на организм оказывается опосредовано, через корма. Снижение качества кормовых средств в процессе хранения (повышение концентрации продуктов окисления и гидролиза жиров, накопление вторичных метаболитов плесневых грибов) повысило распространенность патологий белкового и минерального обмена, что снизило выход деловых поросят в расчете на опорос.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волощук, П.Д. Интенсификация репродукторного свиноводства / П.Д. Волощук, В.Г. Пушкарский. – М.: Россельхозиздат, 1982. – 182 с.
2. Гельвиц, Э.-Г. Заболевания свиней / Э.-Г. Гельвиц. – М.: ООО «Издательство Астрель», 2003. – 112 с.
3. Гильман, З.Д. Повышение продуктивности свиней / З.Д. Гильман. – Минск: Ураджай, 1982. – 238 с.
4. Качество и безопасность комбикормов. Сообщение 1. Содержание продуктов гидролиза и окисления липидов в зерне, комбикормовом сырье и комбикормах / Д.А. Гирус [и др.] // Эпизоотология, иммунология, фармакология и санитария. – 2006. – № 2. – С. 70–76.
5. Козловский, В.Г. Технология промышленного свиноводства / В.Г. Козловский. – М.: Россельхозиздат, 1984. – 334 с.
6. Кабанов, В.Д. Повышение продуктивности свиней / В.Д. Кабанов. – М.: Колос, 1983. – 256 с.
7. Кузнецов, А.Ф. Ветеринарная микология / А.Ф. Кузнецов. – СПб.: Лань, 2001. – 416 с.
8. Плященко, С.И. Естественная резистентность организма животных / С.И. Плященко, В.Т. Сидоров. – Л.: Колос, 1979. – 184 с.
9. Об утверждении Ветеринарно-санитарных норм по безопасности кормов и кормовых добавок: Постановление Минсельхозпрода РБ № 48 от 28.04.2008 г.
10. Комбикорма полнорационные для свиней. Технические условия: ТУ РБ 06063149.064-2000.
11. Повышение продуктивности свиней в условиях промышленного комплекса селекционно-технологическими методами / И.П. Шейко [и др.] // Весці. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. агр. навук. – 2006. – № 2. – С. 78–82.
12. McKenzie, K. A discrete – time epidemiological model to quantity selection for disease resistance / K. McKenzie, S.C. Bishop // Animal Science. – 1999. – Vol. 69. – P. 471–472.

Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Журавлева Е.С., кандидат ветеринарных наук¹
Зуйкевич Т.А., кандидат сельскохозяйственных наук¹
Красочко П.А., доктор ветеринарных и биологических наук, профессор²
Кузьминский И.И., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Степанова Е.А., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Толяронок Г.Е., кандидат ветеринарных наук, доцент¹

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

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

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРЕПАРАТА «ЭНДОМЕТРАФАГ» НА ОБМЕННЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ПОСЛЕРОДОВЫХ ЭНДОМЕТРИТАХ У КОРОВ

Резюме

Проведены исследования по изучению влияния препарата «Эндометрафаг» на обменные процессы при послеродовых эндометритах у коров. Анализ полученных результатов исследований, отражающих состояние биохимического обмена, не выявил значительных различий у животных опытной группы после применения препарата и в контрольной группе коров.

Summary

Studies have been conducted to study the effect of the drug «Endometraphage» on metabolic processes in postpartum endometritis in cows. Analysis of the results of studies reflecting the state of biochemical metabolism did not reveal significant differences in the animals of the experimental group after the use of the drug and the control group of cows.

Поступила в редакцию 24.10.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Одну из важнейших проблем воспроизводительной функции молочного стада представляют послеродовые воспалительные процессы эндометрия. Частота встречаемости эндометрита у коров составляет в среднем 27,4–35,0 % [3]. При несвоевременном или недостаточно эффективном лечении острый эндометрит в большинстве случаев принимает характер хронического течения с развитием необратимых изменений в матке, что в последующем приводит к постоянному бесплодию. Выбраковка коров из стада по причинам гинекологических заболеваний и яловости составляет 8,8–13,9 % [5].

В большинстве случаев для лечения коров, больных эндометритом, в практической ветеринарии используются антиби-

отики, сульфаниламиды, нитрофураны и производные хиноксалина.

Применение вышеперечисленных химиотерапевтических средств сопряжено с целым рядом негативных последствий, для минимизации которых в настоящее время все большую актуальность и востребованность приобретают биологические препараты на основе бактериофагов, отличающиеся высокой чувствительностью к ним патогенной микрофлоры, сочетаемостью со всеми видами традиционной антибактериальной терапии, отсутствием противопоказаний к применению [1, 2, 4].

В связи с этим весьма актуальной является разработка альтернативного метода лечения коров с использованием препаратов на основе бактериофагов.

Цель работы – изучение влияния раз-

работанного на основе бактериофагов препарата «Эндометрафаг» на обменные процессы коров при послеродовых эндометритах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научно-исследовательская работа по изучению действия препарата на обменные процессы при послеродовых эндометритах у коров проводилась в ОАО «Щомыслица» Минского района.

Было проведено обследование коров с целью формирования групп животных с острым послеродовым эндометритом. Затем сформировано 2 группы: 1-я группа – коровы, больные острым послеродовым эндометритом ($n=5$), 2-я группа – клинически здоровые животные ($n=5$). Формирование групп проводили постепенно, по мере выявления данной патологии, по принципу условных аналогов.

Животным первой группы применили препарат в дозе 50 мл внутриматочно однократно, животные второй группы являлись контролем. Отбор проб крови провели до начала опыта, а также спустя 14 дней.

Обменные процессы в сыворотке крови изучали на биохимическом анализаторе Dialab Autolyser. Определяли концентрацию общего белка, альбуминов, кальция, фосфора, железа, магния, мочевины, глюкозы, холестерина, общего и прямого билирубина, мочевой кислоты, триглицеридов, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП), амилазы, креатинкиназы (КФК), креатинина, липопротеидов высокой плотности (ЛПВПЭ), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и гидроксibuтиратдегидрогеназы (HBDH).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты изучения влияния разработанного на основе бактериофагов препарата «Эндометрафаг» на обменные процессы коров при послеродовых эндометритах представлены в таблице 1.

Анализ полученных результатов ис-

следований, отражающих состояние биохимического обмена, не выявил значительных различий у животных опытной группы после применения препарата «Эндометрафаг» и контрольной группы коров.

Так, уровень мочевины в сыворотке крови на всем протяжении опыта находился в области наиболее вероятных значений $3,32-4,15$ ммоль/л и составил в контрольной группе $3,07-3,60$ ммоль/л, в опытной – $3,31$ ммоль/л, что говорит как об отсутствии негативного влияния препаратов на выделительную функцию почек, так и об отсутствии нарушений в работе печени.

Недостоверность изменения уровня глюкозы в опытной группе говорит о щадящем действии данной схемы на печень и поджелудочную железу.

Снижение уровня щелочной фосфатазы в опытной группе ($60,98 \pm 14,84$ Ед/л – $58,44 \pm 7,24$ Ед/л) указывает на улучшение оттока желчи.

При сравнении уровня амилазы в опытной ($16,16 \pm 4,14$ Ед/л) и контрольной ($15,21 \pm 4,16$ Ед/л) группах достоверных изменений не выявлено, что указывает на отсутствие повреждающего действия препарата на поджелудочную железу и экскреторную функцию почек.

Для определения влияния препарата «Эндометрафаг» на минеральный обмен животных были исследованы значения кальция, неорганического фосфора и железа.

Как видно из данных таблицы, уровень кальция в опытной группе через 14 дней стал выше и составил $2,12 \pm 0,20$ ммоль/л (в начале опыта $1,95 \pm 0,19$ ммоль/л), при этом показатель находится в пределах нормы, что указывает на возможное улучшение всасывания кальция из кишечника.

Содержание неорганического фосфора на всем протяжении опыта находилось в пределах нормы ($0,81-2,72$ ммоль/л), что указывает на стабилизацию обмена фосфора.

Достоверных изменений уровня железа в сыворотке крови у животных обеих групп не выявлено, что позволяет сделать

вывод о стабильном обмене железа при применении препарата.

В целях изучения действия препарата на жировой обмен животных в сыворотке крови был исследован уровень общего хо-

лестерина. В результате установлено его недостоверное снижение, что может служить показателем повышенных энергетических затрат животных или неполного восстановления организма.

Таблица 1. – Биохимические показатели сыворотки крови коров при применении препарата «Эндометрафог»

Показатели	Группа животных			
	до применения, опытная	до применения, контрольная	через 14 дней, опытная	через 14 дней, контрольная
АЛТ, Ед/л	15,30±5,54	25,22±7,87	14,45±6,16	25,92±7,73
Щелочная фосфатаза, Ед/л	60,98±14,84	70,7±11,88	58,44±7,24	62,16±15,71
Амилаза, Ед/л	16,96±4,30	16,16±4,14	14,47±2,82	15,21±4,16
Билирубин общий, мкмоль/л	4,76±0,91*	9,76±1,97	8,25±2,28	9,03±2,00
Кальций, ммоль/л	1,95±0,19	2,28±0,14	2,12±0,20	2,20±0,12
Холестерин, ммоль/л	2,96±0,60	3,02±0,49	2,36±0,49	3,05±0,45
КФК, Ед/л	132,56±44,18*	170,4±39,97	97,44±17,63	157,4±46,60
Креатинин, мкмоль/л	81,54±5,40	90±4,76	84,8±7,27	91,58±7,28
АСТ, Ед/л	62,44±8,14	77,46±1,99	69,56±6,46	74,56±3,01
Железо, мкмоль/л	34,74±1,74*	39,94±5,88	36,4±5,77	43,24±4,59
Прямой билирубин, мкмоль/л	1,39±0,19	2,56±0,58	2,02±0,67	2,35±0,63
Глюкоза, ммоль/л	1,81±0,39	2,70±0,49	1,41±0,65*	2,53±0,56
НВДН, Ед/л	465,6±93,59	259,4±89,39	417,8±87,27	316,2±114,65
ЛДГ, Ед/л	1744,6±93,31	1914,8±92,72	1792,2±93,21	1887±101,07
Альбумин, г/л	31,08±2,41*	36,08±2,39	32,92±3,22	36,76±2,59
ЛПВП, ммоль/л	1,68±0,26	1,67±0,21	1,49±0,21	1,70±0,20
Магний, ммоль/л	0,85±0,09	0,81±0,11	0,90±0,08	0,90±0,10
Фосфор, ммоль/л	1,98±0,15	1,85±0,22	1,45±0,15	1,95±0,17
Триглицериды, ммоль/л	0,20±0,01	0,28±0,05	0,20±0,05	0,28±0,05
Мочевая кислота, мкмоль/л	84,18±8,75	95,62±14,19	93,66±13,10	90,86±15,23
Мочевина, ммоль/л	3,31±0,41	3,07±0,65	3,31±0,61	3,60±0,44
Белок общий, г/л	65,54±4,46	66,66±2,88	71,2±6,09	66,6±2,85
ГГТП, Ед/л	20,78±1,78	15,82±1,17	19,34±1,36	17,38±2,08
ЛПНП, ммоль/л	0,38±0,05	0,32±0,03	0,24±0,03*	0,33±0,03

Примечание – * p≤0,05, ** p≤0,01, *** p≤0,001

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Сравнительный анализ результатов исследований позволил установить:

- отсутствие негативного влияния препарата на выделительную функцию почек, а также отсутствие нарушений в работе печени;

- применяемая схема введения препарата оказывает щадящее действие на печень и поджелудочную железу;

- применение препарата приводит к улучшению оттока желчи, стабилизации обмена фосфора у животных.

2. Рассмотрев результаты работы, можно утверждать, что применение разра-

ботанного комплексного биопрепарата на основе бактериофагов для лечения коров с воспалительными заболеваниями репродуктивных органов не оказывает отрицательного влияния на обменные процессы и позволяет судить о его безвредности, а также об отсутствии возникновения каких-либо патологий при его использовании.

3. На основании полученных данных исследуемый препарат можно рассматривать как экологически безопасное и не оказывающее отрицательного влияния на качество животноводческой продукции средство лечения эндометритов у коров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алферова, Э.В. Биологические свойства бактериофага «Enterobacter» и разработка научных основ технологии получения препарата бактериофагов: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.07 / Э.В. Алферова; Уфимский НИИ вакцин и сывороток. – М., 1995. – 30 с.

2. Бактериофаги для лечения и профилактики гнойно-септических инфекций / З.И. Алавидзе [и др.] // Госпитальная эпидемиология: сб. науч. тр. – Л., 1989. – С. 92–94.

3. Ивашкевич, О.П. Диагностика стельности, профилактика и лечение при бесплодии у коров / О.П. Ивашкевич. – Минск: Белпринт, 2008. – 198 с.

4. Использование адаптированного сальмонеллезного бактериофага в практике лечения и профилактики нозокомиального сальмонеллеза / В.Г. Акимкин [и др.] // Журнал микробиологии. – 1998. – № 6. – С. 85–86.

5. Нежданов, А.Г. Послеродовые гнойно-воспалительные заболевания матки у коров / А.Г. Нежданов, А.Г. Шахов // Ветеринарная патология. – 2005. – № 3. – С. 61–64.



ВАКЦИНА «ПНЕВМОБАКТ-Л»

инактивированная эмульгированная
для профилактики пастереллеза
крупного рогатого скота



- **Содержит** антигены бактерий *Pasteurella multocida* тип А (штамм КМИЭВ-В166), *Mannheimia haemolytica* (штамм КМИЭВ-В158), токсид лейкотоксина *Mannheimia haemolytica* и адъювант *Montanide ISA*.
- **Повышает** фагоцитарную активность клеток нейтрофильно-макрофагального ряда и бактерицидную активность сыворотки крови.
- **Применяется** для активной иммунизации крупного рогатого скота в неблагополучных и угрожаемых по пастереллезу стадах.



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

WWW.BIEVM.BY

Ананчиков М.А., кандидат ветеринарных наук, доцент
Красникова Е.Л., научный сотрудник
Ткалич Е.С., младший научный сотрудник
Гордиевская О.Н., ветеринарный врач
Тяпша Ю.И., кандидат ветеринарных наук

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

РОЛЬ ХЛАМИДИЙ В ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Резюме

Согласно литературным данным, наибольшую опасность в животноводстве представляют следующие возбудители семейства *Chlamydiaceae*: *Ch. psittaci*, *Ch. pecorum*, *Ch. abortus*.

В статье приведены данные по этиологической структуре заболеваемости крупного рогатого скота. Приведены данные по выявляемости хламидий в ИФА и ПЦР у животных разных возрастных групп.

Summary

According to literature data, the following pathogens of the *Chlamydiaceae* family pose the greatest danger in animal husbandry: *Ch. psittaci*, *Ch. pecorum*, *Ch. abortus*.

The article presents data on the etiological structure of the incidence of cattle. The data on the detection of chlamydia in ELISA and PCR in different age groups of animals.

Поступила в редакцию 16.11.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение природно-очаговых инфекций, общих для животных и человека, играет важную роль в биобезопасности страны. Хламидиоз является одной из таких инфекций [2, 3].

Инфекцию вызывают возбудители семейства *Chlamydiaceae* – грамотрицательные облигатные внутриклеточные микроорганизмы, которые обладают тропизмом к слизистым оболочкам. Возбудитель хламидиоза КРС отличается устойчивостью во внешней среде: при попадании в водопроводную воду он остается жизнеспособным на протяжении 17 дней, при попадании на снег – до 18 дней, под снегом сохраняется до 29 суток, в пастеризованном молоке – на протяжении 23 суток. В помещениях, где находится крупный рогатый скот, возбудитель остается вирулентным в течение 5 недель [3, 5, 6].

Наличие бессимптомной формы инфекции, а также разнообразие клинических

признаков (респираторная, кишечная, конъюнктивальная, генитальная и энцефалитная формы, полиартриты), инфицирование всех возрастных групп животных в стаде относит хламидиоз к экономически значимым инфекциям.

При респираторном проявлении хламидиоза заболевание охватывает 70–80 % поголовья, а летальные случаи составляют 15–25 %. Заболеваемость скота при кишечной форме может достигать 30–70 %, смертность – 20–30 %. При энцефалитной форме гибель составляет 100 % [1, 4].

Согласно литературным данным, наибольшую опасность в животноводстве представляют следующие возбудители семейства *Chlamydiaceae*: *Ch. psittaci*, *Ch. pecorum*, *Ch. abortus*.

Ch. abortus инфицирует широкий спектр животных, наиболее часто встречается у жвачных в виде энзоотических абортот. Кроме того, их обнаруживали у птиц, яков, свиней, пушных зверей. Во

время заражения возбудитель поражает плаценту, что приводит к аборту на более поздних стадиях беременности или рождению слабых телят при преждевременных отелах. Заражение *Ch. abortus* и последующие аборты чаще всего встречаются у крупного и мелкого рогатого скота [3, 7, 10].

Хламидиозы, вызываемые *Ch. pecorum*, наиболее часто характеризуются респираторной формой (риниты, пневмонии), конъюнктивальной формой (конъюнктивит и слепота), а также патологией желудочно-кишечного тракта и инфекцией мочевыводящих путей (цистит, нефрит), реже бесплодием. Возбудитель вызывает заболевание у овец, крупного рогатого скота, буйволов, свиней, голубей. Тем не менее, зоонозный риск, связанный с *Ch. pecorum*, изучен слабо.

Ch. psittaci – возбудитель широко распространенного зоонозного пситтакоза, который известен как орнитоз, или лихорадка попугая. Патоген в первую очередь поражает птиц и может передаваться другим млекопитающим, в том числе людям. Симптомы птичьей инфекции могут включать конъюнктивит, ринит и блефарит. Зараженные птицы способны распространять бактерии через фекальные или носовые выделения, что создает серьезный риск для зоонозной передачи путем вдыхания инфицированных капель воздуха или частиц пыли [6, 8, 9].

Цель работы – изучение роли хламидий в этиологической структуре заболеваемости крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали серологические, молекулярные и бактериологические методы диагностики. Отбор проб осуществляли как прижизненно (влагалищная и носовая слизь, фекалии), так и посмертно (патологический материал) от животных разного возраста.

Для проведения бактериологических исследований посев свежего охлажденного патологического материала проводили на

сердечно-мозговой агар, среду Эндо, висмут-сульфит агар (фирма Biolab, Венгрия) с последующим культивированием в течение 18–24 часов при температуре от +37 до +38 °С в чашках Петри диаметром 90 мм (фирма Бион, Минск). Далее оценивали морфологические свойства выросших колоний и микроскопию мазков, которые окрашивали по Граму с использованием готового набора красителей фирмы Sigma-Aldrich.

Идентификацию выращенных колоний проводили на основании биохимических свойств на приборе Vitek 2 compact. Для этого изучаемую культуру в виде бактериальной суспензии изолированной колонии готовили в 3 мл специального солевого раствора производства фирмы Biomerieux (кат. № V1204). Концентрацию измеряли прибором DensiCHEK plus фирмы Biomerieux. Готовую суспензию с оптической плотностью 0,5–0,63 McF по шкале МакФарланда использовали для изучения биохимических свойств.

Определение титра антител к ряду инфекций (вирусная диарея, инфекционный ринотрахеит, хламидиоз, коронавирусная инфекция) проводили в иммуноферментном анализе при помощи диагностических систем фирмы IDEXX (США).

Полимеразную цепную реакцию проводили наборами, разработанными в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Выделение ДНК проводили колоночным методом набором «ДНК-ВК», ИБОХ (г. Минск). Концентрацию ДНК измеряли прибором «Nanodrop». Выделение РНК проводили набором «Нуклеосорб» фирмы «Амплиценс» (Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Патматериал отбирался из 11 хозяйств 7 районов, расположенных в 4 областях (Минская, Брестская, Могилевская, Гомельская) Республики Беларусь. Пробы отбирались прижизненно от телят в возрасте от 3 до 90 дней, а также от коров 10–20 дней после отела (таблица 1).

Таблица 1. – Структура и география проб, взятых у крупного рогатого скота

Район	Область	Материал для исследования	Кол-во проб	Вид и возраст животного
Климовичский	Могилевская	влагалищная слизь	3	коровы
Климовичский	Могилевская	фекалии	3	телята, 2–3 месяца
Шкловский	Могилевская	носовая слизь	13	телята, 7–30 дней
Логойский	Минская	носовая слизь и фекалии	4	телята, до 1 месяца
Минский	Минская	фекалии	5	телята, 3–20 дней
Слуцкий	Минская	носовая слизь	10	телята, до 1 месяца
Слуцкий	Минская	фекалии	6	телята, 7–10 дней
Слуцкий	Минская	носовая слизь	4	телята, до 1 месяца
Рогачевский	Гомельская	влагалищная слизь	2	коровы после отела
Пинский	Брестская	фекалии	6	телята, 2–3 месяца
Пинский	Брестская	носовая слизь	8	телята, 2–3 месяца

В данных хозяйствах нами проведены клинический осмотр и анализ клинических признаков и патологоанатомических изменений. От животных с поражениями органов дыхания и желудочно-кишечного тракта, суставов, поражениями глаз и абортами отбирали био- (слизь, кровь, истечения из глаз) и патматериал.

Таким образом, нами были проведены исследования 57 проб различного патологического материала, в том числе 29 проб носовой слизи, 8 проб влагалищной слизи, 19 проб фекалий от крупного рогатого скота.

Согласно проведенным исследованиям, антитела к хламидиозу обнаруживались у 66,7 % обследованных больных животных, тогда как геном возбудителя – только в 7,7 % случаев, что может свидетельствовать о вялотекущей хронической хламиди-

озной инфекции. В 81,8 % случаев (8 из 11 хозяйств) хламидиоз протекал в виде смешанной инфекции. В 45,4 % случаев (5 из 11 хозяйств) у животных с титрами антител к хламидиозу обнаруживали титры антител к вирусной диарее, в 36,3 % (4 из 11 хозяйств) – к инфекционному ринотрахеиту, в 9 % случаев (1 из 11 хозяйств) – антитела к возбудителю коронавирусной инфекции.

Нами проведены исследования 7 проб от телят с кишечной патологией, не поддающейся лечению антибиотиками. Согласно полученным результатам, из 100 % материала выделялись адгезивные штаммы *E. coli*, в 28,6 % – геном возбудителя вирусной диареи (2 пробы), в 14,3 % – геном возбудителя хламидиоза и коронавирусной инфекции (рисунок 1).

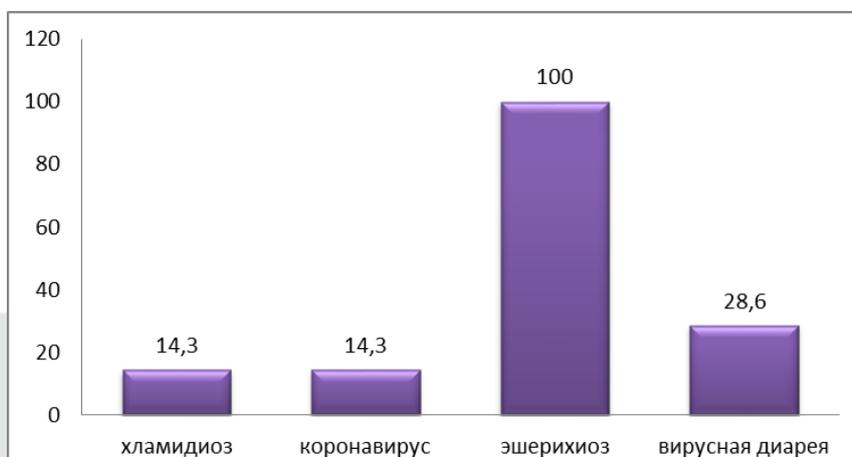


Рисунок 1. – Структура возбудителей, выделяемых из фекалий новорожденных телят с диарейным синдромом

В хозяйстве с положительной динамикой антител в ИФА нами были проведены исследования 39 животных разных возрастных групп (таблица 2) с целью выясне-

ния этиологической структуры заболевания и изучения клинической картины, проявляющейся у животных.

Таблица 2. – Результаты лабораторных исследований проб крупного рогатого скота, положительно реагирующих в ИФА на хламидиоз

Вид и возраст животного	Кол-во, голов	Клинический диагноз	Заключительный диагноз
Телята, 3–7 дней	7	диарея	смешанная инфекция: хламидиоз+эшерихиоз+коронавирусная инфекция+вирусная диарея
Телята, 20–25 дней	5	полиартрит	инфекционная этиология не установлена
Телята, 2–3 месяца	9	бронхопневмония	смешанная инфекция: хламидиоз+пастереллез+ИРТ
Телята, 4–6 месяцев	11	кератоконъюнктивит, экзофтальм	предположительно хламидиоз
Коровы	7	аборты, эндометриты	инфекционная этиология не установлена

Так, у телят в возрасте 3–7 дней с характерными проявлениями патологии со стороны желудочно-кишечного тракта антитела к возбудителю хламидиоза обнаруживались в 57 % случаев, тогда как геном возбудителя – лишь в 11 % случаев. Кроме того, у животных этой группы в 78 % случаев выделялся возбудитель эшерихиоза и в 11 % случаев – возбудитель коронавирусной инфекции (рисунок 2).

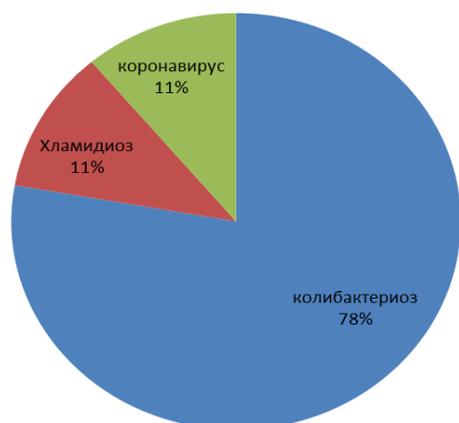


Рисунок 2. – Возбудители кишечной патологии у телят в возрасте 3–7 дней

У телят в возрасте 20–25 дней с множественными поражениями суставов (полиартриты) антитела к хламидиозу выявлялись у 60 % животных, что несколько

ниже приведенных литературных данных И.В. Фомченко (2002) [2]. Но выявить антиген в содержимом пораженных суставов не удалось. При проведении ретроспективной диагностики этих же сывороток с интервалом 14 дней значительных изменений в титрах антител не обнаружено, что может свидетельствовать о носительстве либо хронической инфекции.

Среди возбудителей, выделяемых у 2–3-месячных телят с поражениями органов дыхания (риниты, бронхопневмонии), выделялись *Pasteurella multocida* в 73 % случаев, *Chlamidya spp.* в 18 % случаев, возбудитель ИРТ в 9 % случаев (рисунок 3).



Рисунок 3. – Возбудители респираторной патологии у 2–3-месячных телят

Проведение ИФА показало наличие антител к возбудителям хламидиоза и ИРТ в 67 % случаев.

У телят 4–6-месячного возраста, страдающих патологией глаз (кератоконъюнктивиты, экзофтальм), в 81,8 % случаев обнаруживали антитела к хламидиозу, однако антигена не было выявлено.

У взрослых животных с репродуктивной патологией антитела к хламидиозу выявлялись в 57,1 % случаев. Кроме того, выявлялись антитела к вирусной диарее (71,4 %) и ИРТ (85,7 %). Однако генома возбудителей ни одной из вышеперечисленных инфекций в ПЦР обнаружено не было.

Результаты эпизоотологических исследований хозяйств указывают на то, что хламидиоз выделяется у разных возрастных групп животных в 7–11 % случаев и протекает в виде смешанных инфекций.

Присутствие в помещениях для содержания крупного рогатого скота в большом количестве синантропной птицы (голуби, воробьи) может поддерживать персистенцию *Ch. psittaci* в хозяйстве, что и проявляется клинически (конъюнктивиты и диарейный синдром).

ВЫВОДЫ

Хламидийная инфекция имеет тенденцию к распространению на молочно-товарных фермах и комплексах Республики Беларусь среди телят до 6-месячного возраста.

Наличие на фермах синантропных птиц, отсутствие регулярных диагностических исследований и специальных профилактических мероприятий способствует распространению хламидиоза крупного рогатого скота.

Наиболее часто антитела к хламидиозу выявляют у телят в возрасте 4–6 месяцев.

При обнаружении у телят заболеваний, характеризующихся клиническими признаками поражения желудочно-кишечного тракта в первую неделю жизни, полиартритами, бронхопневмонией в молочный период или односторонним поражением глазного яблока (кератоконъюнктивиты, экзофтальм) в возрасте старше 3 месяцев, необходимо проводить лабораторные исследования с целью исключения хламидийной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Курбанова, И.А. Хламидийный энтерит у молодняка крупного рогатого скота / И.А. Курбанова // *Ветеринария*. – 1980. – № 2. – С. 27.
2. Фомченко, И.В. Хламидиоз телят в Республике Беларусь / И.В. Фомченко, Г.В. Степанов, В.Ф. Багрецов // *Ученые записки ВГАВМ / Витебская ордена «Знак Почета» государственная акад. вет. медицины*. – Витебск, 2000. – Т. 36, Ч. 1 – С. 107–108.
3. Фомченко, И.В. Хламидиозный артрит телят в хозяйствах Республики Беларусь / И.В. Фомченко, Г.В. Степанов, В.Ф. Багрецов // *Актуальные проблемы патологии с/х животных: материалы междунар. науч.-практ. конф., посвященной 70-летию образования БелНИЭВ им. С.Н. Вышелецкого*. – Минск, 2000. – С. 342–345.
4. Фомченко, И.В. Хламидиоз крупного рогатого скота / И.В. Фомченко, Г.В. Степанов, В.Ф. Багрецов // *Ветеринарная медицина Беларуси*. – 2002. – № 2. – С. 18–20.
5. Хазипов, Н.Э. Хламидиозы сельскохозяйственных животных / Н.Э. Хазипов, Х.З. Гаффаров, Р.А. Шафикова. – М.: Колос, 1984. – 223 с.
6. Babu, V.K. The chlamydia and its identification / V.K. Babu // *Livestock Adviser*. – 1987. – V. 12. – № 4. – P. 45–49.
7. *Theapeutique Chlamydomphila abortus and Cp. pecorum vaccination transiently reduces bovine mastitis associated with chlamydomphila infection / C. Biesenkamp-Uhe [et al.] // Infec and Immun 2007, 75:870-877.*
8. Farmer, H. *Chlamydomphila psittaci isolated from the eyes of domesti duers (Anas platyrhyncros) with conjunctivitis and rinitis / H. Farmer, W.S.K. Chalmers, P.R. Woolcoer // Veter. Rec. 1982. – V.1 10. – N 3. – P. 59.*
9. *A clinically silent respiratory infection with Chlamydomphila spp. in calves is associated with airway obstruction and pulmonary inflammation / J. Jaeger [et al.] // Vet Res 2007, 38: 711–728.*
10. *Impact of latent infections with Chlamydomphila species in young cattle / P. Reinhold [et al.] // Vet J 2008,175: 202–211.*

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

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

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕКЦИЯ ГЕНОМА ШТАММА *SALMONELLA DUBLIN* И ЕГО БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Резюме

Проведен скрининг нуклеотидных последовательностей сальмонелл различных видов, циркулирующих у свиней, пушных зверей, птиц и КРС, и подобраны специфичные праймеры к *Salmonella dublin*. Сконструирована отечественная тест-система ПЦР для обнаружения генома *Salmonella dublin*. Изучены биохимические свойства музейного штамма *Salmonella dublin*.

Summary

The screening of the nucleotide sequences of *Salmonella* of various species circulating in pigs, fur animals, birds and cattle were screened and specific primers for *Salmonella dublin* were selected. A domestic PCR test system was designed to detect the *Salmonella dublin* genome. The biochemical properties of the museum strain of *Salmonella dublin* were studied.

Поступила в редакцию 19.11.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Сальмонеллез остается серьезной социально-экономической проблемой для большинства стран мира. В настоящее время во всех экономически развитых странах, в том числе в Республике Беларусь и России, сальмонеллез распространен повсеместно, а заболеваемость им не имеет устойчивой тенденции к снижению [1, 2]. Рост заболеваемости сальмонеллезом связан с развитием животноводства, звероводства и птицеводства. Все это определяет актуальность проблемы.

В условиях повсеместного распространения сальмонеллеза особую озабоченность вызывает отсутствие эффективных методов предупреждения болезни. При интенсификации производства продуктов животноводства требуются новые критерии для диагностики сальмонеллеза [3, 4].

Микробиологическому мониторингу как важнейшей части эпидемиологического надзора за сальмонеллезом всегда уделялось важное внимание. Эпидемиологическое маркирование возбудителей традици-

онно строилось на изучении их фенотипических свойств, однако, как показала практика, для характеристики популяций возбудителей болезней использование традиционных методов оказалось недостаточным [5, 6].

Наиболее полно отвечает требованиям метод выявления ДНК возбудителя, основанный на применении полимеразной цепной реакции (ПЦР). С помощью ПЦР удается обнаружить крайне малое количество сальмонелл, идентифицировать их на видовом и серогрупповом уровнях и подтвердить принадлежность какого-либо штамма к определенному серовару сальмонелл [7, 8]. Разработаны отечественные тест-системы для детекции генома возбудителя *Salmonella cholerae suis*, *Salmonella typhimurium* [9, 10].

Разработка новых современных методов экспресс-диагностики сальмонеллезом и методов типирования сальмонелл является одним из важных моментов сдерживания распространения возбудителей сальмонеллезом.

Цель работы – детекция *Salmonella dublin*: изучение биохимических и молекулярно-биологических свойств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали выращенную на сердечно-мозговом бульоне суточную культуру музейного штамма *Salmonella dublin* (КМИЭВ-В124) – штамм-антиген, принадлежащего РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышесесского».

Применяли: 10x PCR буфер для Taq ДНК-полимеразы, термостабильную ДНК-полимеразу (Taq-полимераза, 5 ед/мкл) (ГНУ «Институт биоорганической химии НАНБ»); смесь дезоксирибонуклеозидтрифосфатов (25 mM); сибгрин (Universal SYBR Green Supermix); маркер молекулярного веса «GeneRuler 50 bp Ladder» (Fermentas, Литва); 10x TBE-буфер; бромистый этидий (SIGMA, США); агарозу (Helicon, Россия); раствор MgCl₂ (50 mM); праймеры; буфер для нанесения проб; стерильную деионизированную воду.

Оборудование:

- ламинар;
- микротермостат «BIOSAN-CH100» (Латвия);
- амплификатор «С 1000 Thermal Cycler», BIO-RAD (США);
- амплификатор «CFX 96 Thermal Cycler», BIO-RAD (США);
- персональный компьютер (Windows XP, 2 GHz, 512 Mb RAM, 80 Gb HDD, CD-RW, USB 2.0, мышь);
- 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, 1–10 мл и наконечники к ним (с фильтрами и без фильтров);
- пробирки для микропроб 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»;

- холодильник «Атлант МХМ 1841» (ЗАО «Атлант», РБ);
- 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;
- ионометр (рН-метр);
- кюветы эмалированные 25x15 см;
- ножницы остроконечные;
- пинцеты хирургические и анатомические;
- шприцы типа «Рекорд» ГОСТ 22967-97 – 1 мл и 5 мл;
- иглы инъекционные ГОСТ 25377-87;
- индивидуальный халат и одноразовые перчатки из латекса;
- комплект средств для обработки рабочего места.

Методы исследований: анализ ДНК бактериальных изолятов на наличие генома *Salmonella dublin* проводили **методом ПЦР** с электрофоретической детекцией.

В основе метода лежит амплификация фрагмента генома *Salmonella dublin* за счет многократного повторения циклов денатурации ДНК в исследуемой пробе, отжига специфических олигонуклеотидных праймеров, содержащих последовательности, комплементарные с целевым участком, и синтеза комплементарных цепей ДНК с помощью фермента Taq-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 агарозном геле и с помощью кривых флуоресценции.

Подбор праймеров. Поиск новых синтетических олигонуклеотидных праймеров осуществляли по базам данных Gene Bank – Национального института здоровья США, EMBL – Европейской молекулярно-биологической лаборатории, DDBJ – На-

ционального института генетики Японии и PDB – базы данных белковых последовательностей при помощи поисковой системы Entrez Национального центра биотехнологической информации США. Полученные последовательности нескольких пар праймеров дополнительно тестировали на специфичность с помощью моделирования ПЦР в программе Vector NTI и BLAST on-line (www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast). Выбранные олигонуклеотиды были синтезированы в ОДО «Праймтех» (г. Минск). Ориентировочные температуры плавления и отжига праймеров рассчитывали по формуле

$$T_m = 4(G+C) + 2(A+T).$$

Выделение ДНК проводили по протоколу «РНК-ВТК».

Аmplификация. Проведение ПЦР осуществляли, используя программу амплификации: 1) 95 °С 3 мин; 2) 95 °С 30 с; 3) 60 °С 45 с; 4) 72 °С 45 с, п.п. 2–4 – повтор 39 циклов; 5) 72 °С 5 мин; 6) 10 °С хранение.

Таблица 1. – Программирование амплификатора

Циклы	Реакция	Температура	Время
1	прогревание смеси	95 °С	3 мин
40	денатурация	95 °С	30 с
	отжиг/удлинение	60 °С	45 с
	элонгация	72 °С	45 с
Хранение	10 °С	-	-

Снятие показаний флуоресценции производили на стадии отжига/удлинения при 60 °С на канале SIBR. Учет и интерпретацию результатов проводили на приборах «CFX 96 Thermal Cycler» (Bio-Rad, США). Результаты интерпретировали на основании температур плавления нуклеотидных последовательностей фрагментов ДНК (диссоциация ДНК), а также наличия или отсутствия пересечения кривой флуоресценции с установленной на определенном уровне пороговой линией (что соответствует наличию или отсутствию значения порогового цикла C_t в соответствующей графе в таблице результатов). Результат считали достоверным только в случае прохождения

Использовали оптимальные концентрации компонентов реакционной смеси: ПЦР-буфер AM – 5,0 мкл; dNTPs 25 mM – 1,0 мкл; MgCl₂ 50 mM – 1 мкл; F и R – по 10 pm; Taq-полимераза 5 ЕД – 1,0 мкл; буфер для нанесения – 10,0 мкл; H₂O – до 46 мкл; ДНК матрицы – 4 мкл.

Результаты ПЦР регистрировали путем проведения электрофореза в 2%-ном агарозном геле в стандартном TBE буфере путем внесения 10 мкл продукта ПЦР в лунки агарозного геля. Электрофорез проводили при напряжении 120 В 60 мин. Результаты электрофореза учитывали на приборе Gel Doc XR и с помощью программы ImageLab Software. Результат ПЦР считали положительным, если продукт ПЦР был 399 п.н. в соответствии с маркером молекулярного веса.

Аmplификация в режиме реального времени. Проведение ПЦР осуществляли, используя программу амплификации (таблица 1).

положительных и отрицательных контролей амплификации. Образец считали отрицательным, если по каналу SIBR для него значение C_t отсутствовало. Образец считали положительным на наличие генома *Salmonella dublin*, если значение C_t на канале SIBR было не более 37, а температура плавления исследуемых образцов соотносилась с температурой плавления положительного контроля.

Восстановление бактериологической культуры из лиофильной сушки проводили следующим образом: флакон с сухой культурой обрабатывали 70°-ным спиртом, обжигали в пламени спиртовки, вскрывали резиновую пробку, растворяли культуру в

1–2 см³ сердечно-мозгового бульона (Brain Heart Infusion Broth фирмы Biolab, Венгрия) и вносили ее в бактериологическую пробирку с сердечно-мозговым бульоном. Культивировали в течение 18–24 часов при температуре от +37 до +38 °С.

Для изучения биохимических свойств музейного штамма *Salmonella dublin* (КМИЭВ-В124) суточную бульонную культуру пересеивали на сердечно-мозговой агар (Brain Heart Infusion Agar фирмы Biolab, Венгрия) и культивировали в чашках Петри диаметром 90 мм (фирма Бион, г. Минск) в термостате при температуре 37 °С в течение 18–24 часов.

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

Изучаемую культуру в виде бактери-

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

Готовую суспензию с оптической плотностью 0,5–0,63 McF по шкале МакФарланда исследовали, изучая биохимические свойства, на приборе Vitek 2 compact с использованием кассеты Vitek 2 GN.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Полученные данные прибора Vitek 2 compact по биохимическим свойствам музейного штамма *Salmonella dublin* (КМИЭВ-В124) – штамма-антигена представлены в таблице 2.

Таблица 2. – Биохимические свойства музейного штамма *Salmonella dublin* (КМИЭВ-В124) – штамм-антиген

№ п/п	Тест	Сокращение	КМИЭВ-В124
1	2	3	4
1	Аla-Phe-Pro-АРИЛАМИДАЗА	APPA	-
2	АДОНИТОЛ	ADO	-
3	L-пирролидонАРИЛАМИДАЗА	PyrA	-
4	L-АРАБИТ	IARL	-
5	D-ЦЕЛЛОБИОЗА	dCEL	-
6	БЕТА-ГАЛАКТОЗИДАЗА	BGAL	-
7	ПРОДУКЦИЯ H ₂ S	H ₂ S	+
8	БЕТА-N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНИДАЗА	BNAG	-
9	Глютамилариламидаза рNA	AGLTp	-
10	D-ГЛЮКОЗА	dGLU	+
11	ГАММА-ГЛЮТАМИЛТРАНСФЕРАЗА	GGT	-
12	СБРАЖИВАНИЕ ГЛЮКОЗЫ	OFF	+
13	БЕТА-ГЛЮКОЗИДАЗА	BGLU	-
14	D-МАЛЬТОЗА	dMAL	+
15	D-МАННИТ	dMAN	+
16	D-МАННОЗА	dMNE	+
17	БЕТА-КСИЛОЗИДАЗА	BXYL	-
18	БЕТА-аланинариламидаза рNA	BAlap	-
19	L-пролинАРИЛАМИДАЗА	ProA	-
20	ЛИПАЗА	LIP	-

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
21	ПАЛАТИНОЗА	PLE	-
22	ТирозинАРИЛАМИДАЗА	TyrA	+
23	УРЕАЗА	URE	-
24	D-СОРБИТ	dSOR	+
25	САХАРОЗА	SAC	-
26	D-ТАГАТОЗА	dTAG	-
27	D-ТРЕГАЛОЗА	dTRE	+
28	ЦИТРАТ (НАТРИЯ)	CIT	+
29	МАЛОНАТ	MNT	-
30	5-КЕТО-D-ГЛЮКОНАТ	5KG	-
31	L-ЛАКТАТ, подщелачивание	ILATk	+
32	АЛЬФА-ГЛЮКОЗИДАЗА	AGLU	-
33	СУКЦИНАТ, подщелачивание	SUCT	+
34	Бета-N-АЦЕТИЛГАЛАКТОЗАМИНИДАЗА	NAGA	-
35	АЛЬФА-ГАЛАКТОЗИДАЗА	AGAL	+
36	ФОСФАТАЗА	PHOS	+
37	ГлицинАРИЛАМИДАЗА	GlyA	-
38	ОРНИТИНДЕКАРБОКСИЛАЗА	ODC	+
39	ЛИЗИНДЕКАРБОКСИЛАЗА	LDC	+
40	L-ГИСТИДИН, ассимиляция	IHISa	-
41	КУМАРАТ	CMT	+
42	БЕТА-ГЛЮКУРОНИДАЗА	BGUR	-
43	УСТОЙЧИВОСТЬ К 0/129 (вибриостат, агент)	O129R	+
44	Glu-Gly-Arg-АРИЛАМИДАЗА	GGAA	-
45	L-МАЛАТ, ассимиляция	IMLTa	-
46	ЭЛЛМАН	ELLM	-
47	L-ЛАКТАТ, ассимиляция	ILATa	-

Исходя из полученных данных, представленных в таблице 1, было установлено, что музейный штамм *Salmonella dublin* (КМИЭВ-В124) – штамм-антиген продуцирует H₂S, сбраживает глюкозу, расщепляет D-глюкозу, D-мальтозу, D-маннит, D-маннозу, тирозинариламидазу, D-сорбит, D-трегалозу, альфа-галактозидазу, фосфатазу, орнитиндекарбоксилазу, лизиндекарбоксилазу, кумарат. Подщелачивает L-лактат, сукцинат. Утилизирует цитрат (натрия). Обладает устойчивостью к 0/129 (вибриостат, агент).

Однако на приборе Vitek 2 compact музейный штамм с вероятностью 99 % оп-

ределился как *Salmonellas spp.* без указания серовариантной принадлежности.

В связи с необходимостью уточнения серовариантной принадлежности штамма *Salmonella dublin* была проведена полимеразная цепная реакция тест-системой для обнаружения генома *Salmonella dublin* (рисунки 1, 2).

Для создания тест-системы были подобраны праймеры (таблица 3).

Специфичность праймеров установили путем нуклеотидного выравнивания прямого (рисунок 3) и обратного (рисунок 4) праймеров различных штаммов сальмонелл из базы данных.

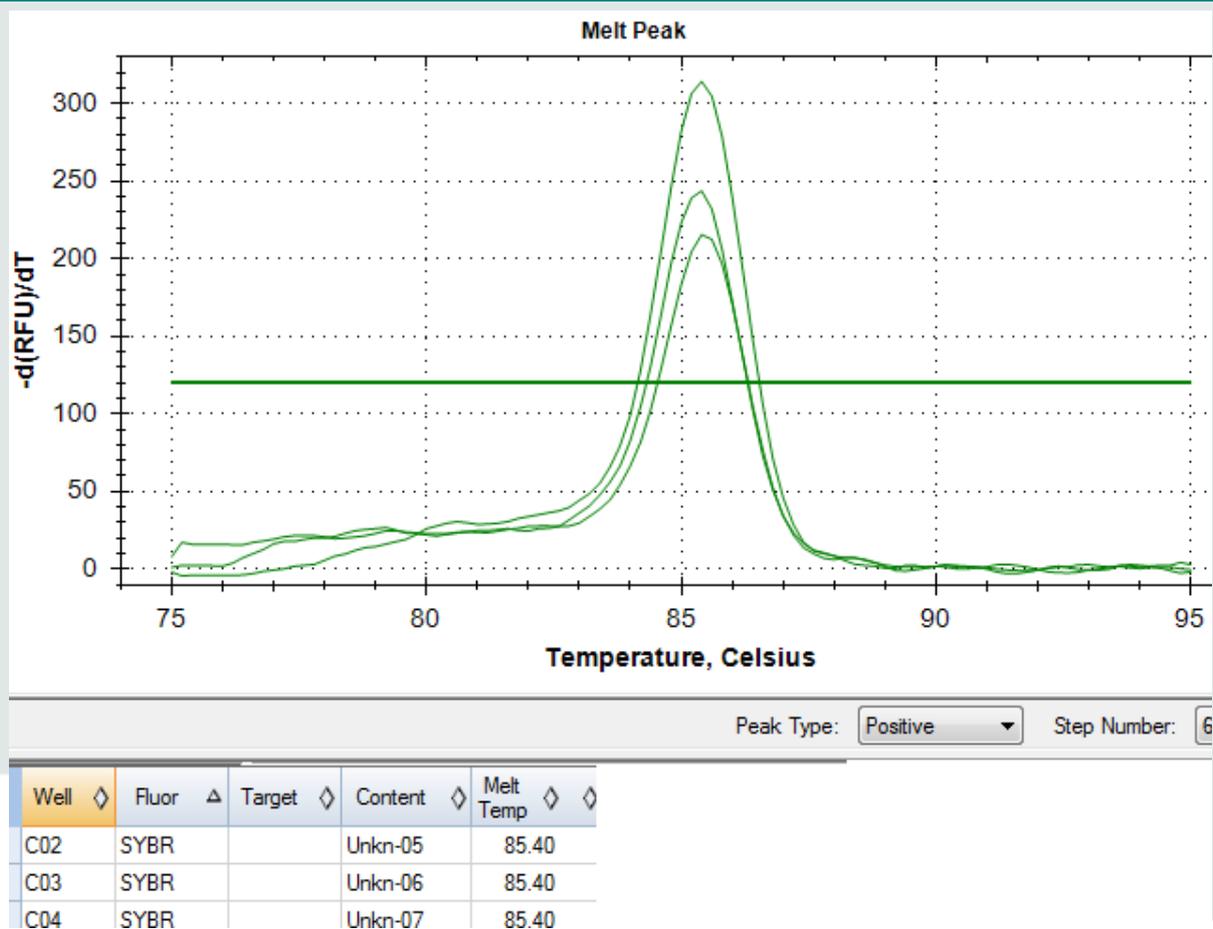
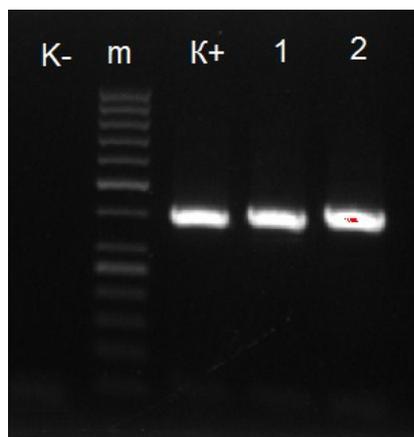


Рисунок 1. – Результаты ПЦР по выявлению генома *Salmonella dublin*, кривая температуры плавления



К- – отрицательный контроль
 m – маркер молекулярного веса
 К+ – положительный контроль
 1-2 – исследуемые пробы (КМИЭВ-В124)

Рисунок 2. – Результаты ПЦР по выявлению генома *Salmonella dublin*, форежная детекция

Таблица 3. – Основные параметры сконструированных праймеров

Название олигонуклеотида	Ампликон, п.о.	T _m , °C	Последовательность олигонуклеотида, 5' → 3'
Sd1-399	399	68	ACA CAC TTT CAC CGA GGA AGC G
Sd2-399	399	70	GGA TGC CTT CTG ATG TTG ACT GG

Sequences producing significant alignments Download ▾ Manage Columns ▾ Show 100 ▾ ?

select all 44 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain CVM 22429 chromosome, complete genome	44.1	2612	100%	2e-05	100.00%	CP032396.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain CVM 34981 chromosome, complete genome	44.1	2612	100%	2e-05	100.00%	CP032390.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain CVM N45955 chromosome, complete genome	44.1	2612	100%	2e-05	100.00%	CP032387.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin genome assembly SC50_1, chromosome :1	44.1	2592	100%	2e-05	100.00%	LK931502.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin str. CT_02021853, complete genome	44.1	2592	100%	2e-05	100.00%	CP001144.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain USMARC-69807 chromosome, complete genome	44.1	2612	100%	2e-05	100.00%	CP032379.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain USMARC-69840 chromosome, complete genome	44.1	2612	100%	2e-05	100.00%	CP032446.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain USMARC-69838 chromosome, complete genome	44.1	2632	100%	2e-05	100.00%	CP032449.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain CVM 22453 chromosome, complete genome	44.1	2612	100%	2e-05	100.00%	CP032393.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain CVM N53043 chromosome, complete genome	44.1	2632	100%	2e-05	100.00%	CP032384.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin str. ATCC 39184, complete genome	44.1	2551	100%	2e-05	100.00%	CP019179.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin SopE gene, partial cds	44.1	44.1	100%	2e-05	100.00%	EU399750.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin SopE (sopE) gene, complete cds	44.1	44.1	100%	2e-05	100.00%	L78932.1

Рисунок 3. – Фрагмент множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей прямого праймера

Sequences producing significant alignments Download ▾ Manage Columns ▾ Show 100 ▾ ?

select all 42 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#)

	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain USMARC-69807 chromosome, complete genome	46.1	2965	100%	7e-06	100.00%	CP032379.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain USMARC-69840 chromosome, complete genome	46.1	2965	100%	7e-06	100.00%	CP032446.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain USMARC-69838 chromosome, complete genome	46.1	3069	100%	7e-06	100.00%	CP032449.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain CVM 22453 chromosome, complete genome	46.1	2965	100%	7e-06	100.00%	CP032393.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain CVM N53043 chromosome, complete genome	46.1	2986	100%	7e-06	100.00%	CP032384.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin str. ATCC 39184, complete genome	46.1	2965	100%	7e-06	100.00%	CP019179.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin SopE gene, partial cds	46.1	46.1	100%	7e-06	100.00%	EU399750.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin SopE (sopE) gene, complete cds	46.1	46.1	100%	7e-06	100.00%	L78932.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain CVM 22429 chromosome, complete genome	46.1	2965	100%	7e-06	100.00%	CP032396.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain CVM 34981 chromosome, complete genome	46.1	2986	100%	7e-06	100.00%	CP032390.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin strain CVM N45955 chromosome, complete genome	46.1	2965	100%	7e-06	100.00%	CP032387.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin genome assembly SC50_1, chromosome :1	46.1	2965	100%	7e-06	100.00%	LK931502.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Dublin str. CT_02021853, complete genome	46.1	2945	100%	7e-06	100.00%	CP001144.1

Рисунок 4. – Фрагмент множественного выравнивания нуклеотидных последовательностей обратного праймера

В пробах № 1, 2 обнаружен геном *Salmonella dublin*.

Результаты проведения ПЦР подтвердили, что штамм *Salmonella dublin* (КМИЭВ-В124) – штамм-антиген содержит геном *Salmonella dublin*.

В результате секвенс-анализа музейного штамма *Salmonella dublin* (КМИЭВ-

В124) была установлена следующая нуклеотидная последовательность (синим цветом обозначены прямой и обратный праймеры, красным – нуклеотидные отличия в сравнении с изолятами (EU399750.1, L78932.1), представленными в базе данных NCBI):

Якубовский М.В., доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент ААН РБ, лауреат государственной премии по науке Республики Дагестан РФ

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

ПАРАЗИТАРНЫЕ БОЛЕЗНИ КОШЕК (АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР)

Резюме

В статье представлены данные по паразитарным болезням кошек. Отмечено, что более 50 % кошек заражены гельминтами, а у котят уровень инвазирования может достигать 75 % и более. Описаны зоонозы, такие как токсоплазмоз, описторхоз, токсокароз, их диагностика, профилактика и лечение.

Summary

The article presents data on parasitic diseases of cats. It has been described that more than 50 % of cats are infected with helminths, and in kittens the level of invasion can reach 75 % or more. Zoonoses, such as toxoplasmosis, opisthorchiasis, toxocariasis, their diagnostics, prevention and treatment are described.

Поступила в редакцию 15.11.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Кошка – одно из самых любимых и популярных домашних животных. Первое письменное упоминание о домашних кошках относится ко 2 тысячелетию до нашей эры. В древнем Египте их начали использовать для охраны зернохранилищ от грызунов, и в то же время кошек там почитали как священных животных. Впрочем, как и в Древнем Риме, в азиатских странах и т.д. Кошки живут в среднем 15–16 лет, но нередко встречаются животные 30-летнего возраста и старше.

Столь длительное общение кошек с окружающей природой, другими животными и человеком не могло не отразиться на появлении у них множества различных болезней, в том числе и паразитарных. В настоящее время встречаются многочисленные сведения о паразитарных болезнях кошек, а также заболеваниях инфекционной и незаразной этиологии. По оценкам специалистов, более 50 % кошек заражены гельминтами, а у котят заражение токсокарами может достигать 75 % и более.

Но особенно опасными паразитогами кошек являются зоонозы – болезни, общие для человека и животных, такие как ток-

соплазмоз, описторхоз, токсокароз и ряд других.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Токсоплазмоз – протозойная болезнь животных и человека, при которой отмечается поражение нервной и лимфатической систем организма, характеризующаяся нарушением работы органов зрения, абортными, рождением нежизнеспособного млекопитающего с проявлением уродств и других аномалий. Вызывается паразитом *Toxoplasma gondii* рода *Toxoplasma*.

Токсоплазмы обнаружены почти у 200 видов животных. Половое развитие токсоплазм происходит в организме кошек и других представителей семейства кошачьих, а бесполое размножение – в организме сельскохозяйственных и диких животных, а также человека.

Заражение кошек происходит при поедании промежуточных хозяев, в организме которых находятся цисты, псевдоцисты с цистозитами. Последние проникают в клетки кишечного эпителия кошки, где размножаются с образованием цист. После выделения во внешнюю среду ооцисты созревают и становятся инвазионными. При

попадании в организм животных или человека происходят выделение из ооцист спорозоитов, которые мигрируют в различные органы и ткани, интенсивно размножаются с образованием цист и псевдоцист.

Токсоплазмоз распространен повсеместно, в т.ч. в странах ближнего зарубежья и Беларуси. Источником инвазии являются больные токсоплазмозом кошки, выделяющие во внешнюю среду ооцисты этих паразитов, которыми загрязняются помещения, корма, вода. По данным ряда исследователей, токсоплазмы выделяются также с молоком, калом, мочой, но наиболее интенсивно – с околоплодной жидкостью, абортрованными или мертворожденными плодами. Возможно заражение при поедании сырого мяса от больных животных или внутриутробное заражение. При токсоплазмозе у кошек наблюдается снижение аппетита, исхудание, поносы, нередко с примесью крови в фекалиях.

Диагностику на токсоплазмоз проводят комплексно с учетом эпизоотологических данных, клинического течения болезни, результатов лабораторных исследований. Для этого берут около 1 г фекалий кошки, помещают в ступку, добавляют 10 мл воды и 3 капли 1%-го раствора фенола. Содержимое тщательно растирают пестиком, фильтруют через двухслойный фильтр марли, затем центрифугируют 10 мин при 2–2,5 тыс. об/мин. К полученному осадку добавляют раствор сахарозы плотностью 1,15–1,18, размешивают и повторно центрифугируют 5 мин при 1 тыс. об/мин. Бактериологической петлей снимают поверхностную пленку, наносят на предметное стекло, покрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом (7×40). При необходимости проводят также идентификацию ооцист токсоплазм.

Профилактика токсоплазмоза кошек состоит в строгом соблюдении ветеринарно-санитарных правил содержания этих животных: исключить скармливания инвазированных токсоплазмами кормов, не допускать кошек в животноводческие помещения, места хранения и приготовления

кормов, постоянно осуществлять дератизационные мероприятия. Мертворожденные и абортрованные плоды должны уничтожаться, станки, где были беременные животные, следует дезинфицировать 3%-ным раствором гидроокиси натрия.

Описторхоз – природно-очаговый зооноз кошек, других животных и человека. Возбудитель – трематода *Opisthorchis felinus*. Паразиты развиваются с участием промежуточного хозяина – пресноводного моллюска *Bithynia leachi* и дополнительных хозяев – рыб. Яйца описторхисов, выделенные вместе с экскрементами во внешнюю среду, имеют уже сформированный мирацидий, который выходит из яйцевых оболочек только в кишечнике промежуточного хозяина – пресноводного моллюска *Bithynia leachi*. Мирацидий проникает через кишечную стенку в полость тела моллюска, где превращается в спороцисту. Через 30–35 дней из спороцисты образуются редии, в которых начинают развиваться церкарии. Через два месяца церкарии покидают моллюсков, при этом их положительные фото- и термотаксисы стимулируют выход церкариев из моллюсков в дневные часы (между 12 и 16 ч, т.е. в период максимальной активности рыб). Они плавают вблизи дна водоема, затем нападают на рыб, проникают через кожные покровы в мышечную и соединительную ткани, инцистируются и превращаются в метацеркариев. В мышцах рыб метацеркарии достигают инвазионной стадии через 6 недель. Источником инвазии являются зараженные описторхисами люди, кошки, другие животные и рыба.

Заражение описторхисами кошек, других животных, а также человека происходит при поедании инвазированной этим паразитом сырой рыбы. При этом метацеркарии в организме definitivoных хозяев освобождаются от цист и проникают в желчные ходы печени. Здесь паразиты растут и через 3–4 недели достигают половой зрелости. Следовательно, развитие описторхисов от яйца до половозрелой стадии продолжается 4–4,5 месяца. В организме

дефинитивных хозяев описторхисы могут жить от трех до двадцати лет.

В Республике Беларусь в бассейне реки Припять наиболее высокая инвазированность метацеркариями описторхисов установлена у язя – 13,80–56,10 %, в бассейне реки Днепр – 23,50–38,10 %, инвазированы также линь, плотва, лещ и елец. В реке Сож инвазированы метацеркариями описторхисов 16,60 % язей, 11,10 % ельцов и 5,80 % плотвы. Инвазирована также рыба Западной Двины, при этом зараженность метацеркариями описторхисов линя, плотвы, красноперки, язя и уклея колебалась от 3,10 до 12,50 %.

Патогенное влияние описторхисов на организм кошек состоит в том, что, паразитируя в желчных ходах печени, гельминты вызывают механическое раздражение слизистой, оказывают токсическое воздействие на организм. Это ведет к хроническому воспалению желчных ходов, циррозу печени, жировой и белковой дистрофии.

Молодые гельминты травмируют стенки желчных и панкреатических протоков шипиками, расположенными на кутикуле. Зрелые гельминты в процессе миграции захватывают и отрывают клетки эпителия присосками, оставляя множество кровотокающих эрозий, и стимулируют бурную регенеративно-гиперпластическую реакцию эпителия.

При заражении в организм могут заноситься патогенные бактерии и вирусы, возникают аллергические явления. Патогенность паразита в значительной степени зависит от интенсивности инвазии дефинитивных хозяев. Высокая патогенность описторхисов зависит также от физиологического состояния дефинитивного хозяина. Больные и ослабленные, а также молодые организмы гораздо сильнее реагируют на паразитов, чем взрослые особи. Описторхоз утяжеляет течение ряда инфекционных и незаразных болезней, что нередко приводит к обострению болезни и гибели животного.

Клиническое течение описторхоза у кошек проявляется в зависимости от общего состояния и степени инвазированности паразитами.

Нередко наблюдают угнетение, частичный или полный отказ от корма, часто приводящий к истощению, расстройству работы желудочно-кишечного тракта, желтухе, увеличению печени и появлению боли в этой области.

При описторхозе нарушается работа практически всех органов и систем организма, включая сердечно-сосудистую, эндокринную, нервную и, особенно важно, иммунную систему.

Диагноз на описторхоз ставят на основании комплексных исследований, в т.ч. эпизоотологических, клинических, патоморфологических и лабораторных данных. При необходимости ставят биопробу.

Яйца описторхисов очень мелкие (0,02–0,03×0,01–0,02 мм) и тяжелые (уд. вес 1,38–1,46). Поэтому обычные флотационные растворы непригодны. В качестве флотационных жидкостей применяют раствор хлорида цинка с плотностью 1,82 или раствор йодида калия с плотностью 1,71. Раствор готовят из расчета 250 г соли на 100 мл теплой воды.

Пробы фекалий кошек массой 3 г помещают в стакан объемом 50 мл, при постоянном помешивании добавляют 1–1,5 г кальцинированной соды, а затем до полного объема стакана – водопроводную воду до получения взвеси. Ее фильтруют в чистый стакан через металлическую или капроновую сетку. Суспензию отстаивают в течение 5 мин, верхний слой жидкости сливают, добавляют до 50 мл воды и еще раз отстаивают 5 мин. Надосадочную жидкость сливают, а осадок помещают в центрифужную пробирку. Пробирки с осадком центрифугируют в течение 1,5–2 мин со скоростью 1000 об/мин. После этого жидкость сливают, а к осадку добавляют один из указанных растворов. Осадок взбалтывают в растворе и вновь центрифугируют в том же режиме. После этого металлической петлей диаметром 6 мм снимают с поверхности взвеси 5–6 капель, переносят на предметное стекло и микроскопируют. Перед микроскопией к каждому препарату добавляют одну каплю глицерина, разбавленного 1:1 водой, и покрывают

покровным стеклом. Яйца описторхисов светло-желтой или слабо-золотистой окраски с крышечкой на одном полюсе и небольшим шипиком на другом. В яйцах находится сформированная личинка – мирацидий.

Посмертные исследования кошек на наличие описторхисов проводят по методу неполного гельминтологического вскрытия трупов по К.И. Скрябину (1928), при этом внимательно обследуют печень, желчный пузырь, почки, поджелудочную железу. При осмотре обнаруживают плоских трематод длиной 8–13 мм. Диаметр ротовой присоски 0,25 мм, брюшная присоска несколько меньшей величины – 0,22 мм. В средней трети гельминта расположена заполненная яйцами матка.

Для постановки биопробы заражают котят. Им скармливают свежие кусочки инвазированной описторхисами рыбы и через 25–30 дней проводят гельминтооооскопическое обследование с целью обнаружения яиц описторхисов. На вскрытии в желчных ходах печени обнаруживают половозрелых гельминтов.

Исследование моллюсков с целью нахождения редий и церкариев описторхисов проводят компрессорным методом.

Рыб исследуют методом неполных гельминтологических вскрытий трупов по В.А. Догелю (1933).

При дифференциальной диагностике метацеркариев различных трематод учитывают размер и форму цист, в которые они заключены, форму оболочек, количество и форму присосок, подвижность личинок и т.д.

Эффективным препаратом при описторхозе плотоядных и пушных зверей является новый отечественный антигельминтик «Прафентим». Он применяется животным 1 раз в день в течение 2 дней подряд из расчета 1 таблетка на 5 кг живой массы в утреннее кормление с небольшим количеством корма. Голодная диета и применение слабительных средств при проведении дегельминтизации не требуются. При отказе животных от корма препарат вводят в виде водной суспензии при помощи шприца.

Профилактические дегельминтизации

проводят ежеквартально. При сильном заражении животных гельминтами лечение необходимо повторить через 2–3 недели. Дегельминтизацию проводят за 1–2 недели до вакцинации. Беременным животным за 2–3 недели до родов препараты не применяются.

Профилактику описторхоза осуществляют комплексно с участием ветеринарных и медицинских специалистов с одновременным проведением организационных и общих хозяйственных мероприятий.

Для профилактики описторхоза, как и многих других болезней рыб, водоемы следует содержать в надлежащем порядке, соблюдая при этом необходимые ветеринарно-санитарные требования.

В районах, эндемичных по описторхозу, где в пресноводных водоемах производится промысловый и любительский лов рыб семейства карповых (язя, плотвы, ельца, красноперки, линя, густеры, гольца и др.), необходимо проводить гельминтологические исследования рыб на зараженность личинками описторхисов. Исследуют до 15 экземпляров каждого вида рыб, обитающего в данном водоеме.

Снижение популяции моллюсков *Biithynia leachi* является важным этапом в общем комплексе мероприятий по профилактике описторхоза. Для этой цели следует применять все возможные методы, в т.ч. углубление мелководных прибрежных зон водоемов, удаление в прибрежной зоне растительности, применение моллюскоцидов, известкование водоемов и др. Перспективны биологические методы борьбы с моллюсками. Действенным методом является мелиорация.

Охрана водоемов от попадания в них описторхисов должна проводиться комплексно, начиная с должной санитарной культуры в прилегающих к водоему населенных пунктах, чтобы вместе с нечистотами не смывались в водоемы яйца описторхисов.

В неблагополучных по описторхозу населенных пунктах не следует скармливать кошкам и другим плотоядным живот-

ным сырую, вяленую или холодного копчения рыбу и ее внутренние органы.

Отходы, получаемые при обработке рыбы, направляются для переработки на кормовую рыбную муку или обезвреживаются в котлах кипячением в течение 30 мин.

Следует постоянно проводить ветеринарно-санитарное просвещение населения о мерах профилактики описторхоза.

Дипилидиоз – гельминтозное заболевание кошек и других плотоядных с поражением желудочно-кишечного тракта, которое вызывается цестодой *Dipylidium caninum*.

Цестода длиной до 70 см и шириной члеников до 3 мм имеет сколекс, вооруженный четырьмя присосками с хоботком с четырьмя рядами крючьев. Развиваются паразиты с участием промежуточных хозяев – блох и власоедов.

Во внешнюю среду цестоды выделяют яйца, коконы и членики, которые длительное время сохраняются в подстилке, в щелях пола, на ковриках. Личинки блох и власоедов заглатывают яйца цестоды, где развиваются личинки – цистицеркоиды. При заглатывании кошками блох и власоедов с содержащимся в них цистицеркоидами последние выходят из промежуточного хозяина и фиксируются на слизистой 12-перстной кишки присосками и крючьями, превращаясь в половозрелых цестод.

При высокой степени заражения кошек цестодами может произойти закупорка тонкого кишечника. Выделяемые гельминтами продукты обмена веществ вызывают интоксикацию организма кошек, появляются расстройства работы нервной системы. При дипилидиозе кошки худеют, у них снижается аппетит, животные теряют активность.

При вскрытии павших кошек отмечают истощение, в тонком кишечнике наблюдают катарально-геморрагические воспаления, в просветах кишечника обнаруживают цестод. Диагноз при жизни животных ставят на основании обнаружения в фекалиях характерных члеников, коконов или яиц гельминтов.

Кокон желто-коричневого цвета размером 0,14–0,17 мм с тонкой оболочкой, внутри них содержатся яйца гельминта.

Лечение кошек при дипилидиозе проводят дронцитом (5 мг/кг живой массы), применяют также дронтал (1 таблетка на 4 кг живой массы), прафентим (1 таблетка на 5 кг живой массы), профендер (кошкам массой 0,5–2,5 кг – 0,35 см³, 2,6–5,0 кг – 0,70 см³, 5,1–8,0 кг – 1,12 см³, массой более 8 кг – 0,14 см³ на кг живой массы), с лечебной целью – по показаниям, с профилактической – ежеквартально.

Профендер не применяют одновременно с другими антигельминтиками, котят моложе 8-недельного возраста и массой менее 0,5 кг.

С целью профилактики дипилидиоза кошек содержат в чистых помещениях, места их постоянного расположения периодически обрабатывают эмульсией эктомина в концентрации 1:1000, коврики обваривают кипятком.

Токсокароз кошек вызывается нематодой *Toxocara cati*. Возбудитель относится к семейству *Anisakidae* и отличается от аскарид анатомо-морфологическими признаками и особым циклом развития. Токсокарозом может болеть и человек. *T. cati* – нематода серо-желтого цвета длиной 3–10 см. Яйца гельминтов почти круглой формы с ячеистой скорлупой 0,068–0,075 мм в диаметре.

Цикл развития *Toxocara cati* проходит с обязательной миграцией личинок в крови кошек. Во внешней среде в яйцах при благоприятных условиях через пять дней развивается личинка. При заглатывании инвазионных яиц в кишечнике кошки из них выходит личинка, которая мигрирует по кровеносному руслу, проникает в легкие, затем попадает в ротовую полость, заглатывается и в тонком отделе кишечника через 50 дней достигает половой зрелости.

Известны 3 пути заражения кошек токсокарами:

– прямой путь: токсокары попадают в организм при заглатывании инвазионных яиц;

– при поедании резервуарных хозяев (мышевидных грызунов, инвазированных личинками токсокар);

– внутриутробный путь: личинка проникает из организма беременной кошки в плод.

При прохождении личинок токсокар через ткани организма кошки они травмируют их, инокулируют в организм патогенные бактерии и вирусы. В тонком кишечнике токсокары могут закупорить просвет кишки, выделяемые ими продукты обмена вызывают аллергию и интоксикацию. Особенно опасны токсокары для котят в возрасте от 20 дней до 2,5 месяцев.

Интенсивное инвазирование котят токсокарами вызывает ослабление аппетита, истощение, анемию, расстройство работы желудочно-кишечного тракта, нервные явления.

Патологоанатомические изменения характеризуются истощением, катарально-геморрагическим воспалением тонкого кишечника, в просвете которого обнаруживают токсокар.

При токсокарозе кошек применяют тимбендазол 22%-ный в дозе 45 мг/кг живой массы, гелминтовет в дозе 50 мг/кг живой массы, профендер в максимальной дозе 0,14 мл/кг массы, фенбет 20 в дозе 50 мг/кг живой массы и др. препараты.

Профилактические мероприятия включают гельминтологическое обследование котят не реже одного раза в месяц, взрослых животных – ежеквартально, уборку экскрементов и дезинвазию. Следует не допускать контакта бродячих кошек с домашними.

Саркоптоз – инвазионная болезнь кошек и других животных с поражением кожи. Сопровождается зудом, образованием корочек и струпуев, выпадением шерсти и истощением. При генерализованной форме саркоптоза возможен падеж животных.

Возбудителями саркоптоза являются чесоточные клещи из рода *Sarcoptes*. Возбудители округлой формы с короткими конечностями величиной 0,3–0,5 мм.

Самки клещей паразитируют в глубоких слоях кожи, откладывают там яйца, из

которых через 15–20 дней вырастают взрослые клещи. Заражение происходит при контакте больных и здоровых животных, через различные предметы ухода. Вне животного клещи погибают через 2 недели, при пониженной температуре – через сутки.

Примерно через 2–3 недели после заражения на голове животного вначале появляются папулы и везикулы, потом они покрываются коркой. Затем поражение распространяется на другие части тела – грудь, корень хвоста, нижние части живота, и саркоптоз принимает генерализованный характер. Выпадает шерсть, образуются трещины. Животные сильно беспокоятся, чешут пораженные места, теряют аппетит, наблюдается исхудание.

Диагноз ставят на основании комплексных исследований – эпизоотологических, клинических и лабораторных. Соскобы кожи берут острым скальпелем на границе здоровой и больной кожи. Материал помещают в бактериологическую чашку, заливают 10%-ным раствором гидроокиси натрия на 5 мин. После этого кусочки ткани с жидкостью переносят на предметное стекло, расщепляют препаровальными иглами, накрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом.

Для лечения саркоптоза кошек в последнее время применяют препараты макроциклических лактонов и другие (бутокс и эктомин в 0,1%-ной концентрации, ивермектин 1%-ный в дозе 0,1 мл на 5 кг живой массы). Лечение повторяют через 7–8 дней.

Профилактика саркоптоза состоит в изоляции больных животных. Проводят обеззараживание мест, где содержатся больные животные. При поступлении новых животных их обследуют на наличие клещей и при необходимости проводят лечение.

Блохи. У кошек паразитируют *te- ocephalus felis* – кошачья блоха.

Блохи – мелкие бескрылые насекомые от светло-желтого до темно-коричневого и черного цвета. Тело насекомых сплюснуто с боков и имеет клиноо-

бразную форму, что облегчает продвижение между волосами. Длина насекомых колеблется от 2 до 5 мм. Тело разделено на голову, грудь и брюшко. Во время укуса блоха вводит в рану слюну, которая обладает антикоагуляционным свойством, позволяя насекомому беспрепятственно всасывать кровь жертвы.

Самка блохи в течение жизни откладывает свыше 400 яиц. Яйца блох (гниды) белого цвета овальной формы длиной 0,5 мм, могут находиться на подстилке, земле. При благоприятных условиях через 8–14 дней из яиц выходит личинка. Она ведет свободный образ жизни, питается органическими веществами фекалий и остатками корма. Личинка трижды линяет и окукливается. Стадия куколки длится в среднем 12 дней. За это время в куколке формируется взрослая особь, которая разрывает оболочку кокона и начинает вести паразитический образ жизни. Блохи – временные эктопаразиты, питающиеся кровью, способны к длительному голоданию. Они могут находиться вне животного и только для кормежки запрыгивать на него. Срок развития блох от яйца до имаго при благоприятных условиях длится от 19 до 30 дней.

У кошек и других плотоядных, инвазированных блохами, периодически появляются беспокойство, сильный зуд. Животное расчесывает лапами зудящие участки кожи. На коже появляются ссадины, царапины и даже облысения. Со взрослых плотоядных блохи перепрыгивают на котят, а также людей. При существенном пораже-

нии травмируется и воспаляется кожа, снижается активность животного.

Блохи являются промежуточными хозяевами личинок дипилидий, которые вызывают дипилидиоз. Через укус они также могут являться переносчиками чумы плотоядных.

Диагностика поражения блохами не вызывает сложности, даже если в данный момент их на животном нет. При сильном беспокойстве животных их обязательно осматривают на наличие блох. Чаще всего блохи обитают в области шеи, живота и межчелюстном пространстве.

На животном паразитов уничтожают с применением препаратов «Адвантейдж» и «Большо-ошейник». Кроме того, необходимо помнить, что личинки находятся не на теле животных. Поэтому обрабатывают также подстилку и места содержания животных сопутствующими средствами.

Обработку кошек против блох в теплое время года необходимо проводить регулярно, как и обработку помещения, где содержатся животные.

ВЫВОДЫ

1. Обследование кошек на паразитозы должно проводиться комплексно с использованием современных методов.
2. Обработку животных предпочтительнее проводить комплексными антигельминтиками.
3. Обработку животных необходимо осуществлять вместе с обработкой окружающей среды.

наша продукция



Дубина И.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент

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

ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ЦИСТИЦЕРКОВ (*C. PISIFORMIS*, *C. TENUICOLLIS*) В ПРОЦЕССЕ ОНТОГЕНЕЗА

Резюме

В онтогенезе личиночных форм *C. pisiformis* и *C. tenuicollis* по структурно-морфологическим изменениям четко выделяются 3 стадии развития: 1) рост – с момента внедрения по 6–7 дни; 2) органогенез – с 8-го дня в цистицерках активно развивается паренхима, закладывается протосколекс, формирование которого заканчивается к 20–25 дню; 3) созревание – с 25-го по 35–40-й день происходит созревание, полностью заканчивается формирование сколекса.

Summary

In the ontogenesis of the larval forms of *C. pisiformis* and *C. tenuicollis*, structurally morphological changes are clearly distinguished at 3 stages of development: 1) growth – from the moment of introduction, for 6–7 days; 2) organogenesis – from the 8th day in the cysticerci, the parenchyma is actively formed, the protoscolex is laid, the formation of which ends by 20–25 days; 3) maturation – from the 25th to the 35–40th day, maturation occurs, the formation of scolex completely ends.

Поступила в редакцию 15.11.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Изучая процессы, происходящие в системе «паразит-хозяин» при личиночных цестодозах, мы установили, что даже незначительная интенсивность инвазии личиночными формами цестод является причиной выраженных метаболических сдвигов в организме хозяина. Так, индекс интоксикации у здоровых овец колеблется в пределах 1,029–1,876. В то же время паразитирование цистицерков тениюкольных приводит к увеличению индекса интоксикации в 1,8–7,7 раза [1, 2]. Комплексные морфологические и биохимические исследования позволяют выявить характер дифференцированности, степень зрелости и адаптированности тканей цистицерков, а также определить возможность терапии на основе объективных знаний морфологических и метаболических особенностей личиночных форм цестод в процессе адаптации к паразитированию в тканях хозяина.

Цель исследования – изучить структурно-морфологические и функциональные особенности личиночных форм тений (*C. pisiformis*, *C. tenuicollis*) в процессе онтогенеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение структурно-морфологических особенностей цистицерков *C. pisiformis* и *C. tenuicollis* проводили при получении личиночных форм от экспериментально инвазированных, а также от спонтанно инвазированных животных. Нами было проведено экспериментальное заражение 20 кроликов 5-месячного возраста яйцами *T. pisiformis* – 25–40 яиц на животное. На протяжении 90 дней за животными велось наблюдение, на 3-й, 5-й, 7-й, 10-й, 12-й, 14-й, 20-й, 35-й и 90-й дни убивали по 2 кролика, у которых осуществляли отбор печеночной ткани и обнаруженных цистицерков пизиформых.

Также проведено экспериментальное заражение 10 овец яйцами *T. hydatigena* – 50–60 яиц на животное. На протяжении 6 месяцев за животными велось клиническое наблюдение, на 5-й, 15-й, 25-й, 40-й, 180-й дни с момента заражения убивали по 2 овцы для последующего отбора цистицерков и изучения их структурно-морфологических особенностей.

Извлеченные цистицерки подверга-

лись гистологическому и гистохимическому исследованию.

Гистологические препараты готовились в условиях лаборатории кафедры патологической анатомии и гистологии УО «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». Гистологические препараты готовились путем заливки тканей цистицерков, освобожденных от цистицеркозной жидкости, в парафин и последующего нарезания препаратов на санном микротоме.

Полученные препараты окрашивали гематоксилин-эозином, а также подвергали гистохимическому исследованию путем окраски методом Маллори, методом Кассона, методом Шабадаша и суданом III [3, 4, 5, 6, 7].

Всего подвергнуто изучению более 200 цистицерков пизиформных и 180 цистицерков тенукольных.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных исследований нами установлено, что наиболее выраженные изменения морфологической структуры личиночных форм цестод происходят в период их активной миграции по печеночной ткани зараженных животных и заканчиваются при достижении личинками инвазионной зрелости.

При заражении кроликов яйцами *T. pisiformis* онкосферы, проникнув из кишечника в печеночную ткань, застревают в ее мельчайших капиллярах, и к 3-м суткам формируются цистицерки округлой формы $80 \pm 4,65$ мкм в диаметре.

У образовавшихся личиночных форм хорошо выражена оболочка, состоящая из трех слоев. Снаружи цистицерк покрывает тонкий кутикулярный слой толщиной $1,41 - 1,73$ мкм. Под ним находится базальная мембрана толщиной $2,74 - 3,26$ мкм, к которой прилегает мощный клеточный слой. Общая толщина оболочки составляет $4,7 \pm 0,26$ мкм. Цистицерки целиком заполнены паренхиматозной тканью, формируемой отростками клеток клеточного слоя. Кутикулярный слой и базальная мембрана гладкие, не имеют ворсинок (рисунок 1).

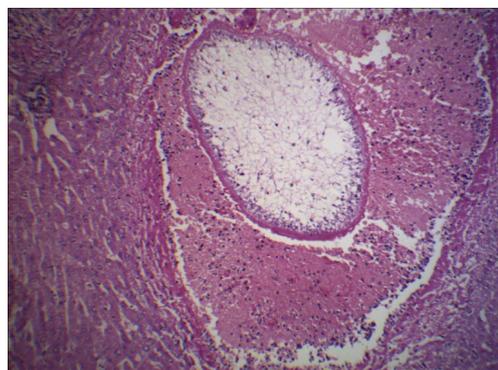


Гематоксилин-эозин, 40×20

Рисунок 1. – Цистицерк пизиформный, 3-й день развития

К 5-му дню развития цистицерков вокруг личинок формируется мощная реакция окружающих тканей.

По мере продвижения цистицерков по печеночной ткани кроликов образуется ход, заполняемый клеточным детритом (рисунок 2). Таким образом, между цистицерками и тканями органа формируется прослойка из детрита, что создает своеобразный оградительный слой, не позволяющий защитным факторам организма оказывать прямое воздействие на молодые формирующиеся цистицерки.



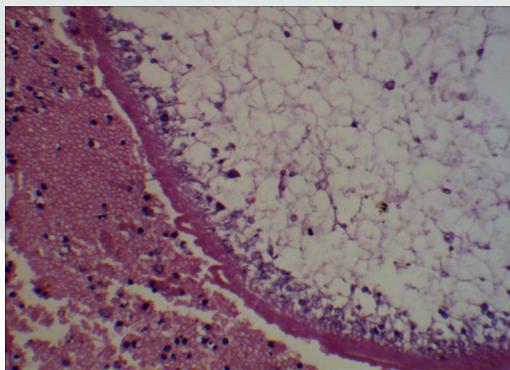
Гематоксилин-эозин, 20×20

Рисунок 2. – Цистицерк пизиформный, окруженный клеточным детритом

К 7-му дню развития цистицерки приобретают овальную форму, размер доходит до $240,3 \times 80,0$ мкм. Оболочка цистицерков утончается, ее общая толщина составляет $5,68 \pm 0,33$ мкм. Клеточный слой становится практически в $1,5 - 2,0$ раза тоньше, чем на 3-й день развития. Цисти-

цестерки полностью заполнены паренхиматозной тканью. Паренхима выглядит как губчатая мезенталиальная ткань – совокупность сетевидно связанных отростчатых клеток, заполняющих все пространство формирующихся цистицерков, при этом она намного плотней, чем на 3–5 дни развития (рисунок 3).

На кутикулярной оболочке заметно образование складчатости. Клеточный слой состоит из не менее 3 слоев округлых клеток с микроядрами. Цитоплазма этих клеток плохо окрашивается, ядра мелкие (рисунок 3).



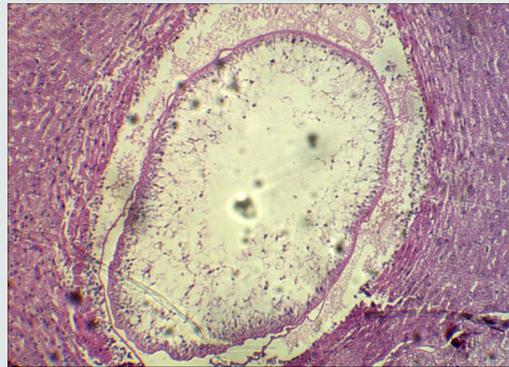
Гематоксилин-эозин, 60×20
Рисунок 3. – Цистицерк пизиформный, 7-й день развития

На 10-й день развития цистицерки достигают размера 384,7×120,3 мкм, в них хорошо развиты кутикулярный и герминативный слои, толщина оболочки составляет 5,74±0,31 мкм. Клеточный слой, прилегающий к базальной мембране, истончается до 8,77±1,13 мкм и состоит из 1–2 рядов клеток. Губчатое мезенталиальное вещество паренхимы в центральной части цистицерков резорбируется (рисунок 4).

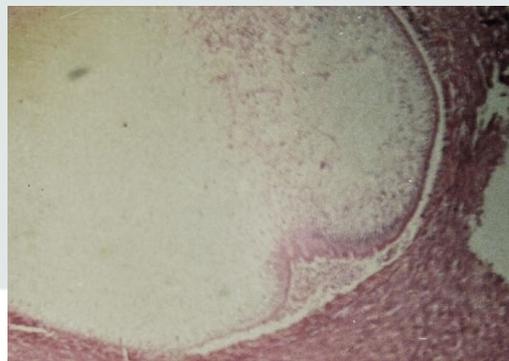
На одном из концов личинки происходит инвагинация участка дифференцированных клеток вовнутрь полости цистицерка (рисунок 5).

К 12-му дню цистицерки веретенообразной формы, длиной 1150–1400 мкм и шириной 380–430 мкм, в месте инвагинации формируется утолщение, представляющее собой складку базальной мембраны. Слои плотно прилегают друг к другу. С внутренней стороны базальная мембрана

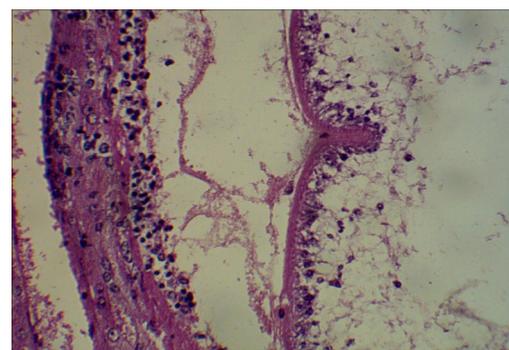
выстилается 1 слоем клеток. В то же время вокруг утолщения клеточный слой состоит из 2–3 слоев (рисунок 6).



Гематоксилин-эозин, 20×20
Рисунок 4. – Цистицерк пизиформный, 10-й день развития



Гематоксилин-эозин, 40×20
Рисунок 5. – Инвагинация клеточных элементов в полость личинки цистицерка пизиформного, 10-й день развития



Гематоксилин-эозин, 60×20
Рисунок 6. – Протосколекс, базальная мембрана, клеточный слой цистицерка пизиформного, 12-й день развития

На 14-й день развития цистицерки продолговато-овальной формы, 5–7 мм

длиной, 2–3 мм шириной, легко извлекаются из ходов миграции. Имеют хорошо выраженный развивающийся протосколекс 600–647 мкм высотой, состоящий из шейки длиной 473,5–502,7 мкм, шириной 61,9–106,2 мкм и головки. Протосколекс окружен плотным слоем клеток. Вокруг головки слой клеток значительно плотней, чем вокруг шейки. Опускаясь к оболочке, он значительно истончается (рисунок 7).



Гематоксилин-эозин, ×40

Рисунок 7. – Шейка, развивающийся протосколекс цистицерка пизиформного, 14-й день развития

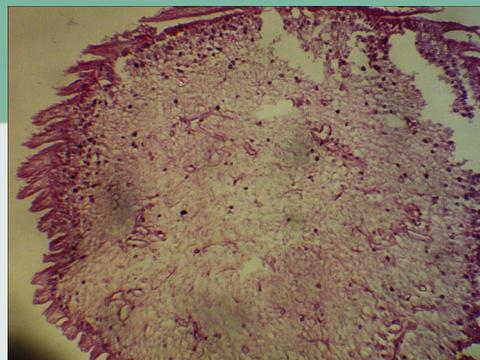
Толщина базальной мембраны составляет $2,18 \pm 0,29$ мкм, клеточный слой – $2,73–3,06$ мкм. Он прилегает к базальной мембране и формируется одним слоем клеток. Паренхиматозная ткань в цистицерках полностью отсутствует. К 14-му дню молодые цистицерки подходят к капсуле печени.

С 14–15-го дня в цистицерках обособливаются два слоя, которые к 20-му дню четко разделяются на наружную и внутреннюю оболочки.

К 20-му дню после заражения цистицеркозные пузырьки до 10 мм в диаметре, с тонкой прозрачной оболочкой, заполнены прозрачной желеобразной жидкостью. Развивающийся протосколекс достигает до 1100 мкм в высоту и 3000 мкм в ширину. Протосколекс состоит из двух типов тканей: плотной, однородной, оксифильно окрашенной и окружающей ее рыхлой губчатой. Как мы полагаем, плотная ткань является не чем иным, как зачатком крючьев. Плотная ткань четко разделена на две части, имеющие один тонкий и один более массивный отросток, из которых в даль-

нейшем формируются элементы крючьев.

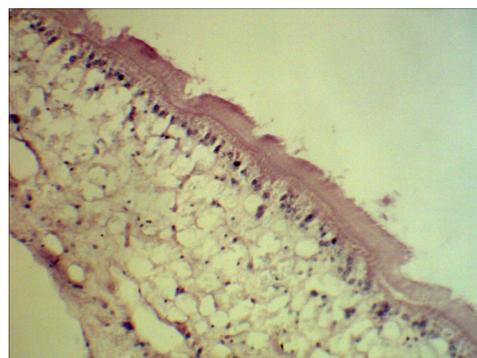
При поперечном разрезе на поверхности протосколекса на уровне шейки хорошо выражено наличие ворсинок высотой $8,21–14,8$ мкм (рисунок 8).



Гематоксилин-эозин, 20×60

Рисунок 8. – Поперечный разрез сколекса цистицерка пизиформного, 20-й день развития

Протосколекс окружен внутренней оболочкой, построенной по типу плоского многослойного эпителия. Общая толщина внутренней оболочки на 20-й день развития составляет $115,33 \pm 9,28$ мкм. В оболочке хорошо просматривается наличие трех слоев. Внутренний слой из рыхлой, губкоподобной ткани, достигающей до $87,6 \pm 5,23$ мкм в толщину, отходит от слоя клеток, расположенных в один ряд. Слой клеток прилегает к гладкой мышечной ткани, над которой располагается кутикула. Толщина кутикулы достигает до 25,6 мкм (рисунок 9).



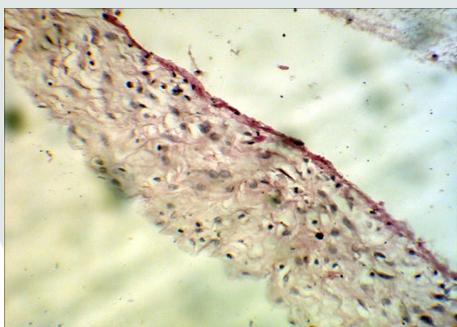
Гематоксилин-эозин, х60

Рисунок 9. – Внутренняя оболочка цистицерка пизиформного, 20-й день развития

Основными функционирующими элементами внутренней оболочки являют-

ся малодифференцированные фибробласты, которые активно размножаются. Важнейшей их функцией на данной стадии развития является синтез белка, который используется для построения оболочки.

Толщина наружной оболочки цистицерка на 20-й день развития составляет $105,33 \pm 5,62$ мкм. Она состоит из рыхлой, но более зрелой по сравнению с внутренней оболочкой соединительной ткани и большого количества зрелых фибробластов. Межклеточное вещество представлено эластичными волокнами, располагающимися хаотично, что создает значительное свободное пространство (рисунок 10).



Гематоксилин-эозин, $\times 40$

Рисунок 10. – Наружная оболочка цистицерка пизиформного, 20-й день развития

На 35-й день с момента экспериментального заражения кроликов цистицерки продолговато-овальной формы достигают 9–14 мм в длину и 7–10 мм в ширину, покрыты прозрачной оболочкой, сквозь которую четко просматривается сколекс в виде белого плотного включения около 4 мм в диаметре (рисунок 11).

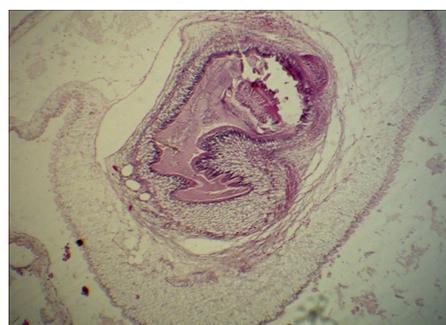


Рисунок 11. – Цистицерки пизиформные, 35–40 день развития (натуральный вид)

При гистологическом исследовании цистицерков пизиформных, извлеченных из животных на 35-й день развития, установлено, что сколекс полностью сформирован, имеет уплощенно округлую форму, достигающую до 3885 мкм в ширину и 2200 мкм в высоту. Сформирован из рыхлой соединительной ткани, состоящей из значительного количества межклеточного вещества, образованного коллагеновыми волокнами, которые располагаются рыхло и беспорядочно. По периферии сколекса залегают хорошо сформированные пучки мышечных волокон (рисунок 12).

На латеральной поверхности сколекса располагаются полностью сформированные присоски с хорошо выраженными пучками мышечных волокон у их основания.

Крючья имеют характерную форму, состоят из лезвия и рукоятки. На лезвии крючьев отмечается наличие отдельных выростов, которые в дальнейшем исчезают. Крючья сформированы плотной, однородной оксифильно окрашенной тканью, по своей структуре напоминающей хрящевую ткань (рисунок 12).



Гематоксилин-эозин, $\times 10$

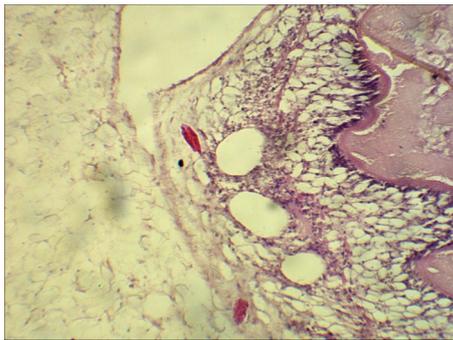
Рисунок 12. – Сколекс цистицерка пизиформного, 35-й день развития

У основания сколекса отмечается наличие протоков (рисунок 13).

Внутренняя оболочка цистицерка к 35-му дню доходит до $220,47 \pm 6,23$ мкм в толщину, имеет хорошо выраженные ворсинки, обращенные в наружную полость цистицерка. На поверхности ворсинок просматривается наличие однородного аморфного вещества, покрывающего их. Гистохимическое исследование показало, что

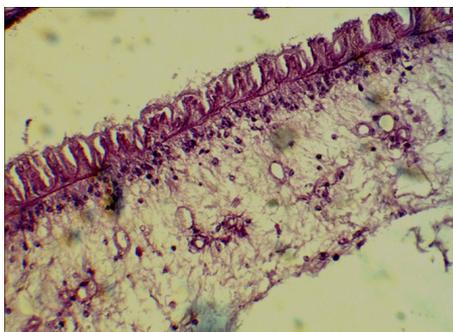
данное вещество является мукополисахаридом. Ворсинки достигают до $17,69 \pm 2,49$ мкм в высоту и $5,3 \pm 0,33$ мкм в ширину, расстояние между ними составляет $7,04 \pm 0,31$ мкм (рисунок 14).

Ворсинки прилегают к мышечной пластинке толщиной 1,12 мкм, за которой располагаются крупные отростчатые клетки, содержащие светлые округлые ядра с 2-3 ядрышками. Цитоплазма клеток слабо базофильна. По своей структуре клетки напоминают малодифференцированные фибробласты. Клетки неравномерно располагаются по поверхности оболочки в 1–4 ряда. От них отходит рыхлая соединительная ткань, формирующая губчатый слой. Толщина слоя клеток составляет 36,47 мкм, слоя губчатой ткани – 184,5 мкм. В середине слоя рыхлой соединительной ткани по всей протяженности внутренней оболочки хорошо заметны протоки диаметром 9,8–11,57 мкм (рисунок 14).



Гематоксилин-эозин, $\times 60$

Рисунок 13. – Протоки у основания сколекса цистицерка пизиформного, 35-й день развития



Гематоксилин-эозин, $\times 60$

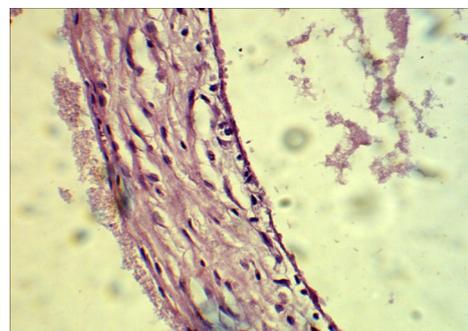
Рисунок 14. – Ворсинки на поверхности оболочки и протоки в толще внутренней оболочки цистицерка пизиформного, 35-й день развития

Возможно, благодаря хорошо развитой системе протоков и осуществляется питание пизиформных цистицерков.

Таким образом, внутренняя оболочка пизиформных цистицерков на 35-й день развития по своей структуре напоминает однослойный столбчатый эпителий.

Наружная оболочка пизиформных цистицерков к 35-му дню развития сформирована сетью относительно толстых продольно вытянутых волокон, состоящих из эластичной ткани. В узких щелевидных пространствах между упорядоченно расположенными волокнами находятся фибробласты и тонкие нити коллагеновых фибрилл. Толщина наружной оболочки составляет $182,24 \pm 5,03$ мкм. На наружной поверхности оболочки заметно наличие покрывающего ее рыхлого аморфного оксифильно окрашенного вещества (рисунок 15).

Следовательно, наружная оболочка цистицерков, в отличие от внутренней, на 35-й день развития является более зрелой. Среди фибробластов преобладают зрелые формы, которые активно синтезируют межклеточное вещество. Обращает на себя внимание уменьшение практически в два раза количества фибробластов в наружной оболочке к 35-му дню развития по сравнению с их содержанием на 20-й день. Дальнейшее наблюдение за изменениями структурно-морфологических особенностей цистицерков показали, что до конца опыта структура наружной оболочки остается неизменной.



Гематоксилин-эозин, $\times 60$

Рисунок 15. – Наружная оболочка цистицерка пизиформного, 35-й день развития

Таким образом, к 35–40-му дню с момента заражения кроликов яйцами *T. pisiformis* цистицерки пизиформные полностью сформированы и достигают инвазионной зрелости.

Оценив динамику изменения общего объема цистицерков пизиформных, можно однозначно утверждать, что наиболее ин-

тенсивный их рост наблюдается с 10-го дня после экспериментального заражения. Динамика изменения толщины внутренней и наружной оболочек также указывает на интенсивное увеличение объемов во второй половине периода развития (с 14-го дня), до момента достижения инвазионной зрелости (35-й день), таблица 1.

Таблица 1. – Динамика изменения толщины внутренней и наружной оболочек цистицерков пизиформных в процессе онтогенеза, мкм

Оболочка	Дни развития								
	3	5	7	10	12	14	20	35	90
Внутренняя	4,7± 0,26	5,64± 0,35	5,68 ± 0,33	5,79± 0,31	5,81± 0,28	6,77± 0,35	115,33± 6,28	220,47± 6,23	219,51± 7,01
Наружная	-	-	-	-	-	-	105,33± 5,62	182,24± 5,03	180,08± 4,37

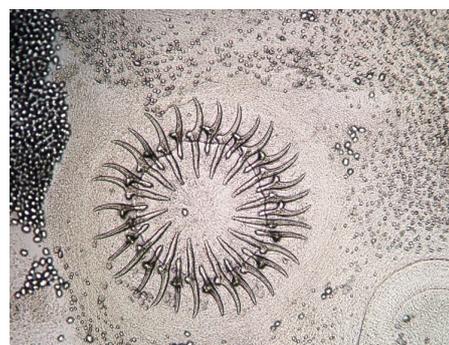
Оценка развития *C. tenuicollis* при экспериментальном воспроизведении цистицеркоза у овец показывает характер морфологических изменений ларвоцист, аналогичный токовому у *C. pisiformis*.

Онкосферы яиц *T. hydatigena* составляют в диаметре около 35–38 мкм. На 5-й день после заражения овец в печеночной ткани сформированы округлые личинки 133–138 мкм в диаметре. Наблюдаются хорошо выраженные три слоя: наружный кутикулярный, клеточный слой и паренхиматозная ткань.

На 10-й день развития в формирующемся цистицерке заметно активное размножение клеточных элементов на переднем конце личинки. Данный участок утолщается практически в 3–3,5 раза, клетки начинают дифференцироваться, появляется зачаток протосколекса. Дальнейшее продвижение молодых форм цистицерков по паренхиме печени происходит только вперед данным участком, прободение капсулы печени также осуществляется именно стороной с формирующимся протосколексом.

На 20-й день в цистицерках хорошо выражен протосколекс с зачатками присосок.

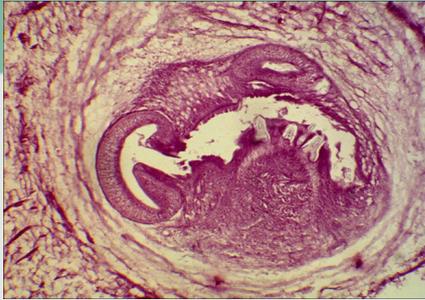
К 40-му дню развития в цистицерках тенуикольных полностью сформированы протосколексы, на которых хорошо видна корона крючьев и 4 присоски. Диаметр присосок достигает 0,299–0,310 мм. Общее число крючьев варьирует от 28 до 40. Длина крючьев 1-го ряда 0,185–0,210 мм, 2-го ряда – 0,126–0,160 мм. При общем объеме цистицерков 3200–3500 мкл толщина стенок наружной оболочки личинок составляет 0,2–0,4 мм (рисунки 16, 17).



Нативный, 10×20

Рисунок 16. – Двойная корона крючьев цистицерков тенуикольных, достигших инвазионной стадии

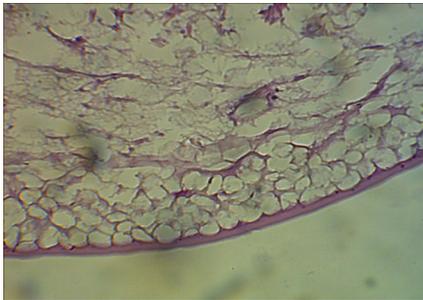
В цистицерках tenuicollis, достигших 40 дней развития, при гистологическом исследовании сколекс имеет округлую форму с хорошо выраженной структурированностью внутреннего строения (рисунок 17).



По Маллори, $\times 10$

Рисунок 17. – Сколекс цистицерка tenuicollis, 40-й день развития

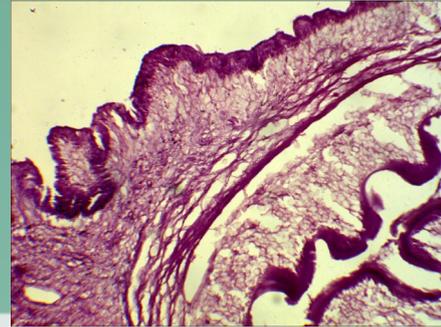
Наружный слой сколекса представлен четко выделенной кутикулярной оболочкой, гладкой в апикальной части и формирующей складки на латеральных частях. Складки увеличиваются как в ширину, так и в высоту по мере продвижения к основанию сколекса (рисунки 18, 19).



Гематоксилин-эозин, $\times 60$

Рисунок 18. – Верхушечная часть сколекса цистицерка tenuicollis, 40-й день развития

Клетки, формирующие кутикулярный слой, лишены ядра и органелл. Толщина кутикулярного слоя доходит до $20,3 \pm 9,64$ мкм. Гистохимическое исследование с использованием методов Браше, Шабаша и окраска суданом III позволяет утверждать, что вещество, формирующее кутикулу, по своей природе является сложным белково-липидно-углеводным комплексом – гликолипопротеидом (рисунки 19, 20, 21).



По Маллори, 10×20

Рисунок 19. – Внутренняя часть сколекса цистицерка tenuicollis, 40-й день развития

Такой сложный комплекс, покрывающий наружную часть сколекса, предполагает многогранность выполняемых им функций.

К кутикулярной оболочке прилегает тонкая базальная мембрана и плотный слой мелких клеток, особенно хорошо выраженный в латеральных частях сколекса.

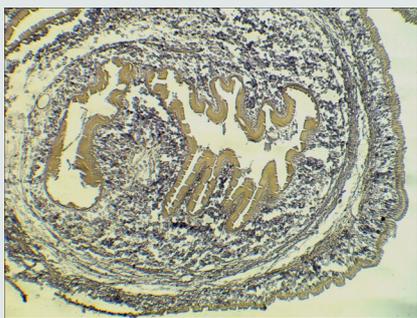
По периферии сколекса расположен плотный слой соединительной ткани толщиной от 45,6 до 91,92 мкм, по своему строению очень напоминающий ретикулярную ткань. Клетки с большим количеством отростков окрашиваемые гематоксилин-эозином в слабо-розовый цвет, формируют ячейки, в которых может находиться тканевая жидкость. Окраска тканей сколекса по Шабашу показывает высокую степень насыщения данного слоя углеводными компонентами (рисунок 20).



По Шабашу, 10×20

Рисунок 20. – Поперечный разрез сколекса цистицерка tenuicollis, 40-й день развития

Периферический слой соединительной ткани ограничен циркулярно расположенными мышечными волокнами, размещающимися упорядоченно, но неплотно, между ними много свободного пространства. При окраске суданом III слой мышечной ткани интенсивно воспринимает краску, что свидетельствует о большом содержании липидов (рисунок 21).



Судан III, 10×20
Рисунок 21. – Сколекс цистицерка tenuicollного, 40-й день развития

Все оставшееся пространство занимает паренхима, состоящая из рыхлой соединительной ткани. Из-за располагающегося в центральной части спиралевидного канала паренхиматозная ткань не имеет четкой формы, толщина ее участков кардинально отличается. Соединительная ткань центральной части сколекса формируется большим количеством эластичных волокон, окрашенных в красный цвет по Маллори (рисунки 17, 19).

В пространствах между эластичными волокнами располагаются тонкие коллагеновые волокна и фиброциты. Паренхима содержит большое количество углеводных компонентов, но при этом практически отсутствуют липиды (рисунки 17, 18, 19, 20, 21).

Обращает на себя внимание располагающееся в центральной части сколекса сильно разветвленное образование – спиралевидный канал, который занимает от 10 до 40 % всего объема сколекса в зависимости от высоты среза (рисунки 20, 21)

Несмотря на общую схожесть структурно-морфологических характеристик личиночных форм тениид (*C. pisiformis*, *C. te-*

nucollis), выявлен ряд отдельных особенностей. Необходимо обратить внимание на наличие хорошо сформированных протоков во внутренней оболочке цистицерков пизиформных и в сколексе на 35-й день развития. Возможно, данная сеть протоков необходима для эффективного снабжения тканей сколекса пластическим материалом и отвода от него остаточных продуктов метаболизма.

Во внутренней оболочке цистицерков tenuicollных протоки не выявлены. Внутренняя оболочка цистицерков пизиформных имеет ворсинки только с одной стороны оболочки, обращенной в полость между наружной и внутренней оболочками. В цистицерках tenuicollных к 40-му дню развития внутренняя оболочка имеет ворсинки на обеих поверхностях: внутренней, обращенной в полость между оболочкой и сколексом, и наружной, обращенной в полость между наружной и внутренней оболочками. Такое обоюдостороннее расположение ворсинок на внутренней оболочке в период роста и развития цистицерков, как мы полагаем, обеспечивает передачу энергетического, пластического материала во внутреннюю полость для нужд формирующегося сколекса и выведение остаточных продуктов в наружную полость. По достижении tenuicollными цистицерками инвазионной зрелости необходимость в интенсивном притоке питательных веществ во внутреннюю полость отпадает, что приводит к рудементированию ворсинок на внешней стороне внутренней оболочки.

ВЫВОДЫ

1. Оценка морфологических изменений личиночных форм *C. pisiformis* и *C. tenuicollis* в онтогенезе позволила нам разделить развитие цистицерков на 3 стадии:

- рост – с момента внедрения по 6–7 дни;
- органогенез – с 8-го дня в цистицерках активно развивается паренхима, закладывается протосколекс, формирование которого заканчивается к 20–25 дню;
- созревание – с 25-го по 35–40-й

день происходит созревание, полностью заканчивается формирование сколекса.

2. Рыхлая соединительная ткань, формирующая оболочки *C. pisiformis* и *C. tenuicollis*, образована эластичными, коллагеновыми и мышечными волокнами, при этом основными являются эластичные волокна.

3. Преобладающими клеточными элементами оболочек *C. pisiformis*, *C. tenuicollis* являются фибробласты разной степени зрелости.

В онтогенезе четко выражена асинхронность развития внутренней и наружной оболочки как у *C. pisiformis*, так и у *C.*

tenuicollis. К 35–40-му дню наружная оболочка личиночных форм четко структурирована, с большим количеством зрелых клеток. В то же время внутренняя оболочка малодифференцирована, с преимущественным содержанием незрелых клеток, тем самым сохраняется ее функциональная активность.

Характер установленных структурно-морфологических особенностей цистцерков позволяет предполагать крайне затруднительное проникновение действующих веществ лекарственных препаратов в личиночные формы по достижении ими 35–40-го дня развития.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дубина, И.Н. Цестодозы животных (общие и прикладные аспекты): монография / И.Н. Дубина, А.И. Ятусевич. – Витебск: УО ВГАВМ, 2007. – 406 с.
2. Дубина, И.Н. Адаптационно-компенсаторные возможности личиночных форм цестод / И.Н. Дубина // Ученые записки Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины. – Витебск, 2009. – Т. 45, вып. 2, ч. 2. – С. 68–72.
3. Артишовский, А.А. Гистология с техникой гистологических исследований / А.А. Артишовский, А.С. Леонтьев, Б.А. Силка. – Минск: Высшая школа, 1999. – С. 201.
4. Неменкова, Ю.М. Методы лабораторных клинических исследований / Ю.М. Неменкова. – М.: Медицина, 1972. – С. 180–357.
5. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / В.В. Меньшиков [и др.]. – М.: Медицина, 1987. – С. 107–108, 110–112, 122–124, 137, 191–192, 216–217.
6. Жаков, М.С. Анализ патологоанатомического вскрытия животных / М.С. Жаков. – Минск: Ураджай, 1977. – 128 с.
7. Меркулов, Г.А. Курс патологогистологической техники / Г.А. Меркулов. – Л., 1969. – С. 89–114.

ПРЕПАРАТ ВЕТЕРИНАРНЫЙ

«КОЛИСТИНЛАКТ»

- ◆ **Содержит** колистин сульфат и вспомогательные вещества.
- ◆ **Оказывает** выраженное бактерицидное действие в отношении большинства аэробных грамотрицательных микроорганизмов, в том числе *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Pasteurella spp.*, *Bordetella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*.
- ◆ **Применяют** для лечения поросят и телят при желудочно-кишечных заболеваниях бактериальной этиологии, в том числе колибактериозе, сальмонеллезе и других инфекциях, возбудители которых чувствительны к колистину.
- ◆ **Назначают** внутрь с питьевой водой или молоком поросятам и телятам (до 3-месячного возраста) в дозе 0,5 мл на 10 кг массы тела в течение 3–5 дней. Суточную дозу можно разделять на 2 приема.

НОВИНКА!

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

WWW.BIEVM.BY



Бирюк Е.Н., кандидат сельскохозяйственных наук¹
Тарашкевич Ю.С., младший научный сотрудник¹
Кручёнок Т.В., младший научный сотрудник¹
Черник М.И., кандидат ветеринарных наук²
Захарик Н.В., кандидат ветеринарных наук²
Гуринович О.Л., магистр биологических наук²
Тяпша Ю.И., кандидат ветеринарных наук²

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

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

ВЫДЕЛЕНИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИЗОЛЯТОВ *LACTOBACILLUS APIS*

Резюме

В работе представлены результаты генотипирования изолятов *Lactobacillus apis*, выделенных из пчелы медоносной. Установлено, что Rep- и RAPD-ПЦР обладают достаточной разграничивающей способностью для типирования исследуемых изолятов. Лучшая дискриминирующая способность показана при использовании праймеров XD8, XD9 (RAPD-ПЦР) и BOXA1R, BOXA2R, ERIC1R-1, ERIC2-1 (Rep-ПЦР).

Summary

The paper presents the results of genotyping of *Lactobacillus apis* isolated from honeybee. It was found that Rep- and RAPD-PCR have sufficient delimiting ability for typing the studied isolates. The best discriminating ability is shown when using primers XD8, XD9 (RAPD-PCR) and BOXA1R, BOXA2R, ERIC1R-1, ERIC2-1 (Rep-PCR).

Поступила в редакцию 22.10.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время бактерии рода *Lactobacillus* представляют собой большую группу грамположительных бактерий в типе *Firmicutes*. Лактобактерии хорошо известны в качестве основных представителей молочнокислых бактерий, которые встречаются в различных богатых углеводами средах, таких как растительные материалы, продукты молочной промышленности, пищеварительные тракты млекопитающих и насекомых. Лактобактерии являются важным звеном здорового желудочно-кишечного тракта животных, и некоторые из них часто используются в качестве пробиотиков из-за благотворного влияния на здоровье млекопитающих и человека.

Лактобактерии – доминирующие молочнокислые бактерии в желудочно-кишечном тракте пчелы и других животных. Они обычно обнаруживаются вместе с бифидобактериями и широко используются в каче-

стве пробиотиков для укрепления здоровья [21].

До настоящего времени большинство исследований микробных сообществ медоносных пчел были сосредоточены на болезнетворных микроорганизмах [1], 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 [2–5].

Бактерии рода *Lactobacillus* образуют самый многочисленный род в гетерогенной группе из молочнокислых бактерий и являются важными «жителями» микробиоты желудочно-кишечного тракта.

По данным Naser Tajabadi [6], из медового зобика азиатской гигантской пчелы, *Apis dorsata*, были выделены и идентифицированы два штамма лактобактерий: *Lac-*

tobacillus kunkeei и *Lactobacillus vermiform*.

По данным Kawasaki [7], лактобактерии *Lactobacillus kunkeei* и *Lactobacillus ozensis*, выделенные из цветов, также были обнаружены у пчел.

Также, по сообщениям различных ученых, от пчел были выделены *Lactobacillus rigidusapis*, *Lb. constellatus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. crispatus*, *Lb. alvei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum* [8–10].

Mahesh [11] указывают, что два микробных рода, *Lactobacillus* и *Wolbachia*, преимущественно присутствовали в значительном количестве в средней кишке *Apis mellifera carnica*.

Классификацию и видовую идентификацию бактерий рода *Lactobacillus* значительно усложняет большое количество морфологических и физиолого-биохимических признаков, которые очень вариабельны даже в пределах одного вида и во многом зависят от состава среды и условий культивирования. Достаточно часто обнаруживаются штаммы с «промежуточными» свойствами, которые сложно отнести к какому-либо известному виду [12].

Молекулярные подходы к типированию бактериальных линий за последние два десятилетия основательно потеснили методы, основанные на анализе фенотипа. Ни один из фенотипических признаков не обладает вариабельностью, степень которой позволила бы различить близкородственные линии микроорганизмов. В то же время генетические профили несут уникальную информацию о последовательностях нуклеотидов ДНК исследуемых образцов [13].

Согласно 2-му изданию определителя Берджи, насчитывается 96 видов и 16 подвидов бактерий рода *Lactobacillus*. Благодаря молекулярно-генетическим методам за последние 10 лет количество видов лактобактерий увеличилось в два раза. В то же время наиболее широко применяемый метод молекулярно-генетической идентификации, основанный на секвенс-анализе генов 16S рибосомной РНК (25665 последовательностей генов 16S рРНК представлено в доступных базах данных), имеет ряд ограничений [14].

В настоящее время одним из лидирующих подходов к типированию микроорганизмов является фрагментный анализ. Целый ряд методов успешно используют для решения различных задач: гель-электрофорез в пульсирующем поле (пульс-электрофорез), полиморфизм длин рестрикционных фрагментов, риботипирование, ПЦР с произвольными праймерами, многолокусный анализ вариабельного числа копий tandemных повторов, анализ полиморфизма длин амплифицированных фрагментов [13]. Широко применяются молекулярные методы, основанные на амплификации повторяющихся последовательностей (RAPD-ПЦР, Rep-ПЦР). При RAPD-ПЦР (random amplified polymorphic DNA) используются короткие произвольные праймеры, которые гибридизуются с ДНК-мишенью при низкой температуре отжига [15]. Rep-ПЦР позволяет амплифицировать 2 основные группы элементов: повторяющиеся экстрагенные палиндромные элементы (Rep) и повторяющиеся внутригенные последовательности, впервые описанные у представителей семейства *Enterobacteriaceae* (ERIC) [16]. Еще одной межгенной последовательностью являются BOX-элементы, которые могут формировать структуры типа стебель-петля благодаря их двойной симметрии [17].

Однако несмотря на то, что спектр подходов для фрагментного анализа генома достаточно широк, каждый из методов имеет свои преимущества и недостатки. В связи с этим выбор подходящего метода для генотипирования микроорганизмов является непростой задачей и зависит от объекта исследования и возможностей метода (воспроизводимость результатов, разрешающая способность метода, стоимость и время анализа, простота выполнения и интерпретации полученных данных).

Цель наших исследований – выделение из пчелы медоносной лактобактерий, перспективных для создания пробиотических препаратов, изучение их производственно-ценных свойств с целью их дальнейшего использования в пищевой

промышленности, их молекулярно-генетическая идентификация и сравнительная оценка значимости методов Rep- и RAPD-ПЦР для генотипирования выделенных изолятов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве источника для выделения бактерий использовали семьи пчелы медоносной (*Apis mellifera carnica*, *Hymenoptera: Apidae*) экспериментальной пасеки РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». Для исследований были отобраны живые особи рабочей пчелы.

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, образование CO₂, сбраживание углеводов).

Бактериальные культуры выращивали на среде МРС при температуре 37 °С. Геномную ДНК бактерий выделяли с использованием коммерческого набора «АртДНКMiniSpin» (ООО «АртБиоТех», РБ) согласно инструкции производителя. Определение нуклеотидных последовательностей гена 16S рНК осуществляли с помощью автоматического генетического анализатора CEQ 8000 (Beckman Coulter, США) с использованием комплекта реактивов для секвенирования DTCS Quick Start Kit (ABSciex, США). Последовательности референтных штаммов *Lactobacillus apis* заимствовали из представленных в свободном доступе нуклеотидных последовательностей базы данных GenBank Национального центра биотехнологической ин-

формации (NCBI) США.

Матрицы для секвенирования синтезировали с помощью ПЦР с использованием универсальных праймеров к гену 16S (27f 5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' и rD1 5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3'). ПЦР осуществляли в градиентном термодиспетчере MJ Mini™ (Bio-Rad), в 30 мкл реакционной смеси, содержащей 1X ПЦР-буфер, 200 мкМ dNTP, 30 пМ молей праймера, 1 ед. *Taq*-полимеразы и ДНК-матрицу. Протокол амплификации включал следующие стадии: начальная денатурация 4 мин при температуре 95 °С; 30 циклов: 94 °С – 30 с, 55 °С – 30 с, 72 °С – 1 мин; заключительная элонгация 2 мин при температуре 72 °С. Очистку продуктов амплификации проводили путем вырезания из геля фрагментов ДНК размером 1500 п.н. с последующей их экстракцией с использованием коммерческого набора «АртДНК MiniSpin Гель» (ООО «АртБиоТех», РБ).

С целью идентификации видовой принадлежности исследуемые последовательности ДНК анализировали на предмет сходства с известными последовательностями генов 16S рНК в базе данных GenBank с помощью программы BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/gene>) [18].

Идентичность последовательностей устанавливали на основе статистической значимости совпадений последовательностей. Дополнительный анализ последовательностей проводили с помощью их выравнивания с использованием программы ClustalX (MEGA) [19].

Молекулярно-генетическое типирование изолятов *Lactobacillus apis* проводили с использованием Rep-ПЦР и RAPD-ПЦР. Rep-ПЦР осуществляли в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 1X ПЦР-буфер, 200 мкМ dNTP; 60 пМ молей праймера, 1 ед. *Taq*-полимеразы и ДНК-матрицу. Для ПЦР использовали праймеры ERIC1R-1, ERIC2-1, BOXA1R, BOXA2R (таблица 1). Протокол амплификации для праймеров ERIC1R-1 и ERIC2-1 включал следующие стадии: начальная денатурация 5 мин при температуре 95 °С; 4 цикла: 95 °С – 1 мин, 40 °С – 5 мин, 68 °С – 8 мин;

30 циклов: 94 °С – 30 с, 51 °С – 1 мин, 72 °С – 2 мин. Протокол амплификации для праймеров BOXA1R и BOXA2R также начинали плавлением ДНК при 95 °С в течение 5 мин; 4 цикла: 95 °С – 1 мин, 40 °С – 5 мин, 68 °С – 8 мин; 30 циклов: 94 °С – 1 мин, 65 °С – 2 мин, 72 °С – 2 мин. В обоих случаях реакции завершали элонгацией при температуре 72 °С в течение 5 мин.

При проведении RAPD-ПЦР использовали праймеры P15, P16, XD8, XD9, RAPD-mes, (GTG)₅ (таблица 1). Реакцию осуществляли в 20 мкл реакционной смеси, содержащей 1X ПЦР буфер, 200 мк МдНТР, 20 пк молей праймера, 1 ед. *Taq*-полимеразы и ДНК матрицу. Протокол амплификации для праймеров P15, P16 вклю-

чал следующие стадии: начальная денатурация ДНК 5 мин при температуре 95 °С; 40 циклов: 94 °С – 30 с, 40 °С – 30 с, 72 °С – 1 мин. Заключительная элонгация 7 мин при температуре 72 °С. Протокол амплификации для праймеров XD8, XD9 включал следующие стадии: начальная денатурация ДНК 5 мин при 95 °С; 40 циклов: 94 °С – 1 мин, 40 °С – 1 мин, 72 °С – 2 мин. Заключительная элонгация 7 мин при температуре 72 °С. Протокол амплификации для праймера (GTG)₅ включал следующие стадии: начальная денатурация ДНК 7 мин при температуре 95 °С; 4 цикла: 95 °С – 2 мин, 36 °С – 2 мин, 72 °С – 8 мин; 30 циклов: 94 °С – 1 мин, 50 °С – 1 мин, 72 °С – 1 мин. Заключительная элонгация 5 мин при температуре 72 °С.

Таблица 1. – Праймеры, использованные для Rep-ПЦР и RAPD-ПЦР

Праймер	Последовательность
ERIC1R1	5'-TAGTAAGCTCCTGGGGATTACAC-3'
ERIC2-1	5'-AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3'
BOXA1R	5'-CTACGGCAAGGCGACGCTGACG-3'
BOXA2R	5'-ACGTGGTTTGAAGAGATTTTCG-3'
P15	5'-CTGGGCACGA-3'
P16	5'-TCGCCAGCCA-3'
XD8	5'-CAAGGCATCC-3'
XD9	5'-GAAGTCGTCC-3'
(GTG) ₅	5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3'

Продукты ПЦР смешивали с интеркалирующим красителем и разделяли с помощью электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле с использованием 1X TAE буфера. Для документирования результатов электрофореза использовали систему GelDoc XR+ («Bio-Rad», США). Размер фрагментов ДНК устанавливали на основании их электрофоретической подвижности, в качестве маркера молекулярного веса ДНК использовали маркер M1Kbp (ОДО «Праймтех», РБ). Кластерный анализ полученных ПЦР-профилей осуществляли с помощью программы TREECON for Windows (version 1.3b) [20]. Бинарные матрицы исходных данных создавали вручную после визуализации гелей, обоз-

начая присутствие фрагмента как 1, а его отсутствие – 0. Анализ осуществляли методом невзвешенного попарного среднего (UPGMA). Бутстрап вычисляли по выборке из 100 деревьев. Критерием устойчивости кластера считали значение бутстрапа выше 50.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Получение накопительных культур молочнокислых бактерий из пчелы медоносной осуществляли путем культивирования отобранных образцов на средах Рогоза и МРС при 37 °С. Выделение чистых культур включало ряд этапов, в том числе получение изолированных колоний, выделение чистой культуры, поддержание чистой

культуры, идентификация и дифференциация изолятов. Для исследований отбирали культуры, клетки которых имели форму палочек с клеточной стенкой грамположи-

тельного типа, не обладающих способностью к образованию спор и не продуцирующих каталазу. Всего было отобрано 9 изолятов (таблица 2).

Таблица 2. – Источники выделения изолятов бактерий

Рабочий номер изолята	Наименование объекта для выделения	Географический пункт отбора образца
p1625/5-1-2-3	рабочая пчела	экспериментальная пасека РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»
p1625/4-2-3-2		
p1626/1-1-2-3	голова пчелы	
p1626/1-1-4-3		
p1627/2-3-2-2	брюшко пчелы	
p1627/2-3-2-2		
p1628/5-1-1-1	рабочая пчела	
p1628/5-1-2-1		
p1628/5-1-3-3		

Для идентификации видовой принадлежности изолятов у них была определена последовательность гена 16S рРНК. Полу-

ченные последовательности сравнивали с последовательностями референтных штаммов из базы данных GenBank (таблица 3).

Таблица 3. – Последовательности штаммов из базы данных GenBank

Штамм	Длина последовательности п.н.	Код доступа
<i>Lactobacillus apis</i> ESL0185	1683102 (complete genome)	CP029476.1
<i>Lactobacillus apis</i> R4B	1 428 (16S ribosomal RNA gene partial sequence)	KF386018.1
<i>Lactobacillus kimbladii</i> Hma2N	1 437 (16S ribosomal RNA gene partial sequence)	JX099549.1
<i>Lactobacillus mellifer</i> Bin4N	1 437 (16S ribosomal RNA gene partial sequence)	JX099543.1
<i>Lactobacillus mellis</i> Hon2N	1 435 (16S ribosomal RNA gene partial sequence)	JX099545.1
<i>Lactobacillus apinorum</i> Fhon13N	1 445 (16S ribosomal RNA gene partial sequence)	JX099541.1

Нуклеотидные последовательности 16S рРНК выделенных изолятов имели максимальный процент совпадения (от 97 до 99 %) с нуклеотидными последовательностями *Lactobacillus apis* из базы GenBank. Результаты анализа, представленные в виде филогенетического дерева, демонстрируют родственные взаимоотношения изучаемых нами изолятов и штаммов, полный геномный сиквенс которых представ-

лен в базе данных NCBI (рисунок 1). На дендрограмме исследуемые культуры расположены в одном кластере с референтными штаммами *Lactobacillus apis*: CP029476.1 и KF386018.1. Полученные данные позволили однозначно идентифицировать видовую принадлежность всех исследованных изолятов как *Lactobacillus apis*.

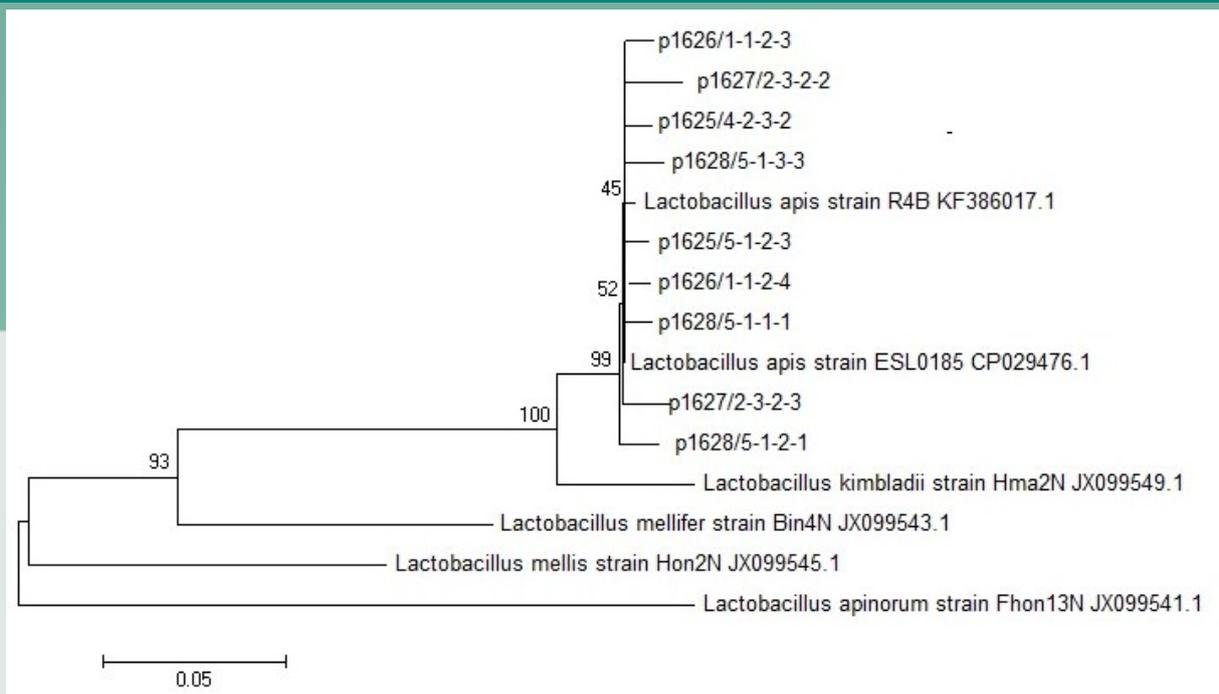
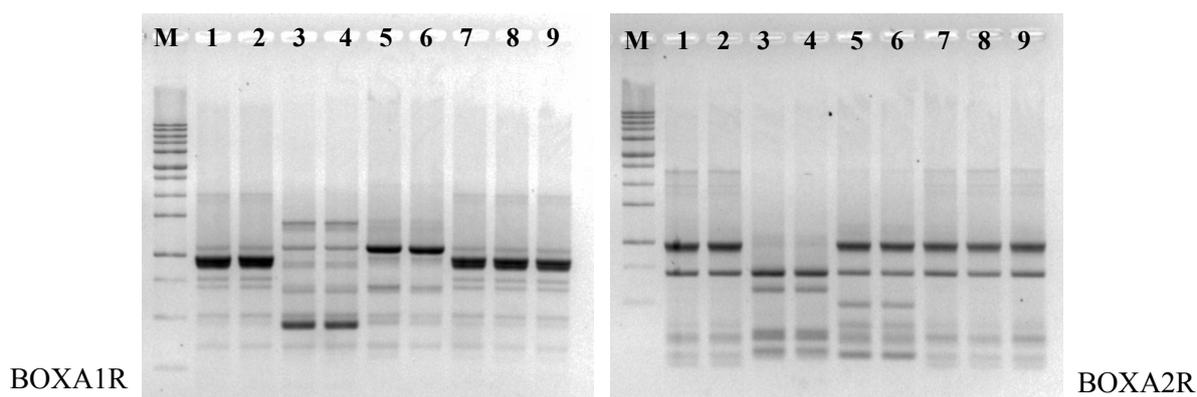


Рисунок 1. – Филогенетическое дерево, отражающее родственные связи исследуемых культур с референтными штаммами рода *Lactobacillus*, депонированными в международной базе GenBank

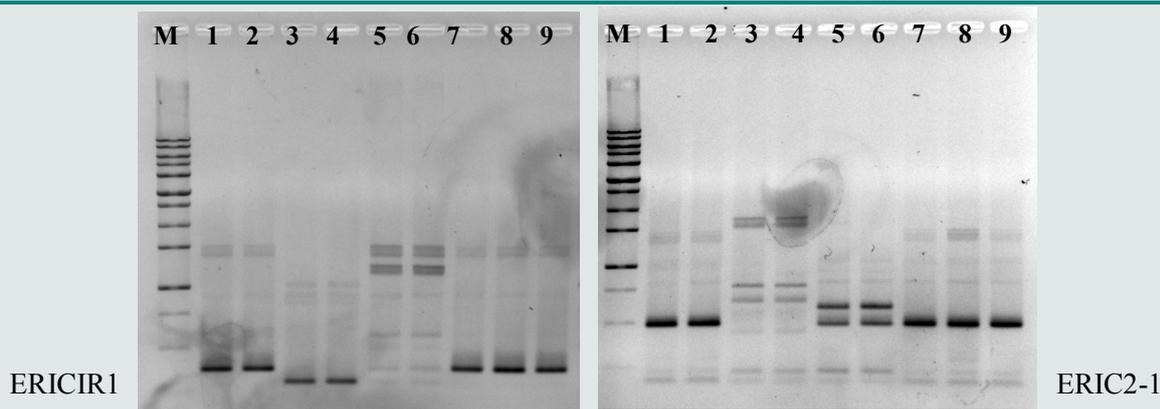
Основная задача исследований заключалась в определении родства изолятов, выделенных из различных особей пчелы медоносной. Генотипирование изолятов *Lactobacillus apis* проводили с использованием Rep-ПЦР и RAPD-ПЦР. Для Rep-ПЦР использовали праймеры ERIC1R-1, ERIC2-1, VOXA1R, VOXA2R.

Наибольшее разнообразие ДНК-профилей выявлено при использовании праймеров VOXA1R и VOXA2R, что указывает на целесообразность использования данных праймеров при определении родства изолятов *Lactobacillus apis*. ДНК-профили после ERIC-амплификации оказались не менее разнообразными (рисунки 2, 3).



Изоляты *Lactobacillus apis*: 1 – p1625/4-2-3-2; 2 – p1625/5-1-2-3; 3 – p1626/1-1-2-3; 4 – p1626/1-1-2-4; 5 – p1627/2-3-2-2; 6 – p1627/2-3-2-3; 7 – p1628/5-1-1-1; 8 – p1628/5-1-3-3; 9 – p1628/5-1-2-1

Рисунок 2. – Электрофореграммы результатов Rep-ПЦР-анализа с праймерами VOXA1R и VOXA2R

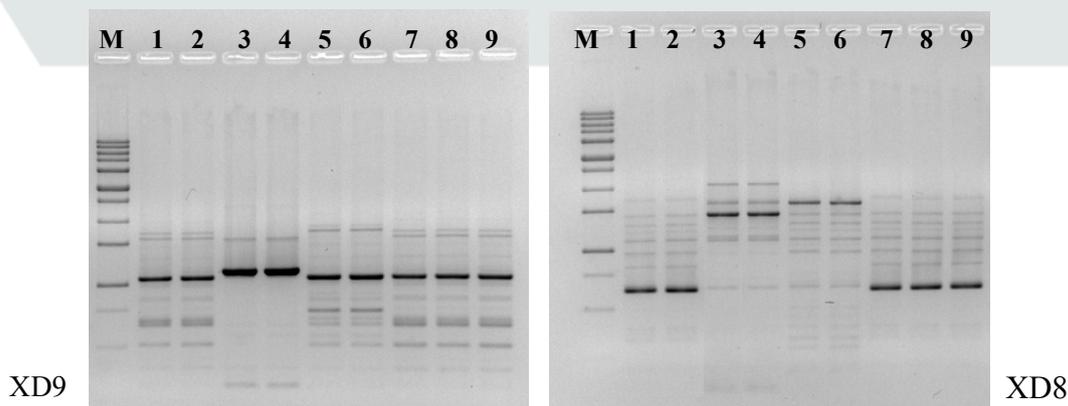


Изоляты *Lactobacillus apsis*: 1 – p1625/4-2-3-2;
 2 – p1625/5-1-2-3; 3 – p1626/1-1-2-3; 4 – p1626/1-1-2-4; 5 – 1627/2-3-2-2;
 6 – p1627/2-3-2-3; 7 – p1628/5-1-1-1; 8 – p1628/5-1-3-3; 9 – p1628/5-1-2-1

**Рисунок 3. – Электрофореграммы результатов
 Рер-ПЦР-анализа с праймерами ERICIR-1 и ERIC2-1**

При генотипировании изолятов *Lactobacillus apsis* с помощью RAPD-ПЦР лучшая дискриминирующая способность была установлена при использовании праймеров XD8 и XD9 (рисунок 4).

Наибольшее количество амплифицированных фрагментов (20) отмечено с праймером XD9. Наименьшее разнообразие ДНК-профилей выявлено при использовании праймеров P15 и P16 (рисунок 5).

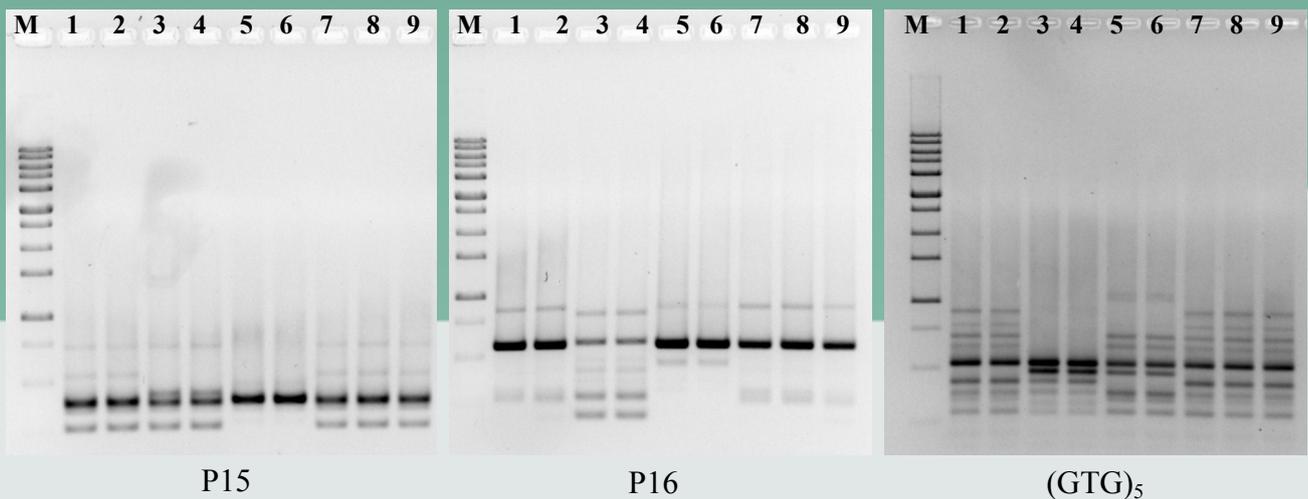


Изоляты *Lactobacillus apsis*: 1 – p1625/4-2-3-2; 2 – p1625/5-1-2-3;
 3 – p1626/1-1-2-3; 4 – p1626/1-1-2-4; 5 – 1627/2-3-2-2; 6 – p1627/2-3-2-3;
 7 – p1628/5-1-1-1; 8 – p1628/5-1-3-3; 9 – p1628/5-1-2-1

**Рисунок 4. – Электрофореграммы результатов
 RAPD-ПЦР-анализа с праймерами XD8, XD9**

Несмотря на значительное разнообразие полученных ДНК-профилей, все исследуемые изоляты можно разделить на 4 геномогруппы при использовании Рер-ПЦР с праймерами ERICIR-1, ERIC2-1, VOXA1R, VOXA2R и RAPD-ПЦР с праймерами XD8, XD9. ДНК-профили после RAPD-ПЦР с праймерами XD8, XD9 и (GTG)₅ оказались менее разнообразными (3 геномогруппы).

На рисунке 6 представлена суммарная дендрограмма филогенетического родства изолятов *Lactobacillus apsis*. Изоляты p1625/4-2-3-2, p1625/5-1-2-3 наиболее близки в филогенетическом отношении с изолятами p1628/5-1-1-1, p1628/5-1-3-3 и p1628/5-1-2-1. Изоляты p1626/1-1-2-3 и p1626/1-1-2-4 являются наиболее филогенетически удаленными от остальных культур.



Изоляты *Lactobacillus apis*: 1 – p1625/4-2-3-2;
 2 – p1625/5-1-2-3; 3–p1626/1-1-2-3; 4 – p1626/1-1-2-4; 5 – 1627/2-3-2-2;
 6 – p1627/2-3-2-3; 7 – p1628/5-1-1-1; 8 – p1628/5-1-3-3; 9 – p1628/5-1-2-1

Рисунок 5. – Электрофореграммы результатов RAPD-ПЦР-анализа с праймерами P15, P16, (GTG)₅

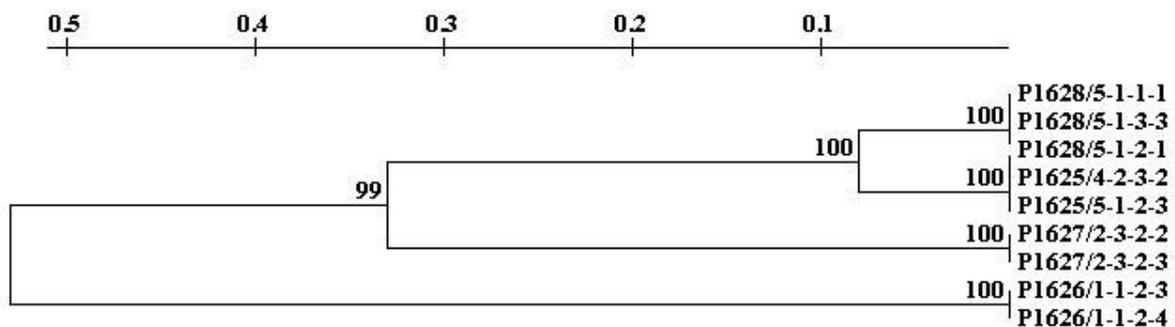


Рисунок 6. – Дендрограмма филогенетического родства изолятов *Lactobacillus apis*

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые в условиях Республики Беларусь от медоносной пчелы *Apis mellifera carnica* выделены 9 изолятов молочнокислой бактерии *Lactobacillus apis*, отличающихся между собой морфологически и генетически.

Высокий внутривидовой уровень фенотипической изменчивости и схожий профиль ферментации углеводов у лактобацилл приводит к недостоверной идентификации данной группы бактерий классическими микробиологическими методами. Поэтому в настоящее время для установления таксономического положения бактерий становится обязательным применение

молекулярно-генетических методов.

Сравнительный анализ полученных результатов свидетельствует о достаточной разграничивающей способности методов Rep- и RAPD-ПЦР для генотипирования изолятов *Lactobacillus apis*. Лучшая дискриминирующая способность отмечена при использовании праймеров XD8, XD9 (RAPD-ПЦР) и BOXA1R, BOXA2R, ER-IC1R-1, ERIC2-1 (Rep-ПЦР).

В дальнейших исследованиях планируется изучение пробиотического потенциала выделенных изолятов *Lactobacillus apis* и возможности использования их в пищевой промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alippi, A.M. Differentiation of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, the cause of American foulbrood of honeybees, by using PCR and Restriction Fragment Analysis of genes encoding 16S rRNA / Alippi A.M., A.C. Lopez, O.M. Aguilar // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2002. – № 68: 3655–3660.
2. Dillon, R.J.V. The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions / R.J.V. Dillon, M. Dillon // *Annu. Rev. Entomol.* – 2004. – 49. – P. 71–92.
3. Gilliam, M. Microbiology of pollen and beebread: the genus *Bacillus* / M. Gilliam // *Apidologie.* – 1979. – № 10. – P. 269–274.
4. Gilliam, M. Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees / M. Gilliam // *Fems. Microbiol. Lett.* – 1997. – № 155. – P. 1–10.
5. Gilliam, M. Digestive enzymes and microorganisms in honey bees. *Apis mellifera* - Influence of Streptomycin, age, season and pollen / M. Gilliam, B.J. Lorenz, G.V. Richardson // *Microbios.* – 1988. – № 55. – P. 95–114.
6. 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.
7. Kawasaki S. Kawasaki S, Kurosawa K, Miyazaki M, Sakamoto M, Ohkuma M, Niimura Y. *Int J Syst. Evol. Microbiol.* – 2011 Oct; 61 (Pt 10). – P. 2435–2438. doi: 10.1099/ij.s.0.027847-0. Epub. 2010. – Nov 12. – PMID: 21075903.
8. Sandine, W.E. Role of *Lactobacillus* in the intestinal tract / W.E. Sandine // *J. Food Protect.* – 1979. – № 42. – P. 259–262.
9. Syed, I.A. Characterization of gut bacterial flora of *Apis mellifera* from north-west Pakistan / Syed Ishtiaq Anjum, Abdul Haleem Shah, Muhammad Aurongzeb, Junaid Kori, M. Kamran Azim, Mohammad Javed Ansari, Li Bin. *Saudi Journal of Biological Sciences.* – 2018. – 25. – P. 388–392.
10. Vincent, G. A simple and distinctive microbiota associated with honey bees and bumble bees / Vincent G. Martinson, Bryan N. Danforth, Robert L. Minckley, Olav Rueppell, Salim Tingek and Nancy A. Moran // *Molecular. Ecology.* 2011. – № 20. – P. 619–628.
11. Properties of different lactic acid bacteria isolated from *Apis mellifera* L. bee-gut / M. Carina Audisio [et al.] // *Microbiological Research.* – 2011. – 166. – P. 1–13.
12. Nigatu, A. Evaluation of numerical analyses of RAPD and AP 50 CH patterns to differentiate *Lactobacillus plantarum*, *Lact. fermentum*, *Lact. rhamnosus*, *Lact. sake*, *Lact. parabuchneri*, *Lact. gallinarum*, *Lact. casei*, *Weissella minor* and related taxa isolated from kocho and tef / A. Nigatu // *J. Appl. Microbiol.* – 2000. – Vol. 89. – P. 969–975.
13. Методы генотипирования бактерий: фрагментный анализ / Е.С. Сколотнева [и др.] // *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* – 2014. – 2(50). – С. 13–21.
14. Молекулярно-генетическая идентификация биотехнологически значимых бактерий рода *Bacillus* / Л.Н. Валентович [и др.] // *Доклады НАН Беларуси.* – 2014. – 58(1). – С. 89–93.
15. Huey, B. Hypervariable DNA fingerprinting in *Escherichia coli*: minisatellite probe from bacteriophage M13 / B. Huey, J. J. Hall // *Bacteriol.* – 1989. – 171 (5). – P. 2528–2532.
16. Versalovic, J. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes / J. Versalovic, T. Koeuth, J.R. Lupski // *NucleicAcidsRes.* – 1991. – № 19. – P. 6823–31.
17. A highly conserved repeated DNA element located in the chromosome of *Streptococcus pneumoniae* / B. Martin [et al.] // *Nucleic. Acids. Res.* – 1992. – № 20. – P. 3479–3483.
18. National Center for Biotechnology Information [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>. – Дата доступа: 03.06.2019.
19. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 6.0 / K. Tamura [et al.] // *Molecular biology and evolution.* – 2007. – Vol. 24, № 8. – P. 1596–1599.
20. Van de Peer, Y., De Wachter Y. TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment / Y. Van de Peer, Y. De Wachter // *Comput. Applic. Biosci.* – 1994. – V. 10. – P. 569–570.
21. Reuter, G. The *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* microflora of the human intestine: composition and succession. *Curr. Issues Intest. Microbiol.* – 2001. – № 2. – P. 43–53.

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

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

СРЕДСТВО ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕЕ «КРИОКС» – ЭФФЕКТИВНЫЙ ДЕЗИНФЕКТАНТ ДЛЯ САНАЦИИ ОБЪЕКТОВ ВЕТЕРИНАРНОГО НАДЗОРА

Резюме

В статье дана краткая характеристика дезинфицирующего средства «Криокс» и описаны методы и схема обработки поверхностей и воздушной среды помещений для содержания животных и объектов пчеловодства.

Summary

The article gives a brief description of the disinfectant «Cryox» and describes the methods and scheme for processing the surfaces and air of rooms for keeping animals and beekeeping.

Поступила в редакцию 01.11.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Важным механизмом контроля санитарно-эпизоотической обстановки в животноводстве, на предприятиях агропромышленного профиля является дезинфекция, основанная на внедрении новых комплексных дезинфицирующих средств, активных в отношении патогенных микроорганизмов.

В системе ветеринарно-санитарных мероприятий, обеспечивающих благополучие по заразным болезням, а также получение качественного сырья животного происхождения, дезинфекция занимает одно из важных мест. Снижение концентрации болезнетворных микробов в помещениях для содержания животных способствует активизации иммунных резервов организма, позволяет направить все силы на борьбу с заболеваниями.

В настоящее время для проведения дезинфекции на объектах, подконтрольных ветеринарному надзору, предлагается огромный выбор дезинфицирующих средств. Однако создание новых эффективных экологически безопасных дезинфицирующих средств, обеспечивающих каче-

ственную дезинфекцию, устраняющих недостатки существующих дезинфицирующих средств (формирование устойчивости микроорганизмов, негативное влияние на новые материалы и оборудование при строительстве животноводческих объектов, ужесточение требований по безопасности для окружающей среды и т.д.), является важной задачей, не утрачивающей своей актуальности по мере её решения [2, 3].

Все попытки по снижению микробной обсемененности животноводческих помещений сводятся к расширению спектра противомикробных препаратов. Это приводит к сильной экологической перегрузке окружающей среды, бессмысленной трате денежных средств, резистентности микробов через мутационные преобразования к новым и старым препаратам [2, 4].

При всей своей эффективности хлорсодержащие препараты и соединения на основе формальдегида имеют целый ряд негативных свойств. Прежде всего это устойчивость к ним микрофлоры, вызванная многолетним использованием препаратов и адаптацией микроорганизмов; выра-

женное иммунодепрессивное действие; возможность кумуляции остатков средств в организме животных; трансформация во внешней среде до канцерогенов и экотоксикантов (диоксины, тригалометаны).

Немаловажным является и то, что эффективные дезинфектанты не всегда пригодны к применению в присутствии животных. Особенно остро это ощущается на крупных промышленных комплексах при круглогодичном стойловом содержании.

В случае с дезинфицирующими средствами важным недостатком также является их агрессивное безразборчивое действие: дезинфектанты уничтожают все бактерии – и полезные, и вредные. При попадании в почву они истребляют почвенную микрофлору и губительно действуют на растения, причем этот негативный процесс может продолжаться значительное время. Таким образом, следует понимать, что большинство дезинфицирующих средств являются сильными ядами, нерациональное и бесконтрольное применение которых может повлечь за собой необратимые последствия, связанные с экологической безопасностью, что в конечном счете повлияет на здоровье людей и животных [2, 4, 5].

Известна зависимость эффективности дезинфицирующих веществ от контактной температуры обрабатываемых площадей. Так, например, нижний температурный порог, при котором эффективны многие противомикробные препараты, составляет 18 °С. А если учесть, что Республика Беларусь находится в зоне, где температура в животноводческих помещениях в зимнее время может опускаться ниже температурного порога, то можно с уверенностью сказать о низкой эффективности применяемых дезинфектантов.

Наибольший эффект применительно к нашей зоне могут дать перекисные препараты. В силу механизма их действия и химических превращений при контакте с органикой (образование воды и кислорода) зимой эти препараты наиболее эффективны, так как в холодное время возрастает содержание кислорода в воздухе, что способствует устойчивости перекисных препа-

ратов. Кроме того, они быстро саморазлагаются на продукты, не токсичны для человека и животных, не накапливаются, как другие дезинфектанты, в помещениях, не способствуют мутациям микробов.

Механизм действия перекиси водорода на вегетативные формы микробов связан с нарушением морфологической структуры клетки. При этом наиболее выраженные изменения происходят в поверхностных структурах как более лабильных. По мере увеличения времени действия дезинфектанта эти нарушения прогрессируют и в конечном итоге становятся причиной гибели (или приводят к необратимой потере жизнеспособности) микроорганизмов. Увеличение эффекта действия на микроорганизмы можно получить при активации перекиси водорода органическими кислотами. Активация перекиси водорода обусловлена тем, что при ее смешивании с органическими кислотами в реакционной смеси образуются надкислоты, которые проявляют более высокую биоцидную активность, чем исходные молекулы перекиси водорода. Характерно, что в случае введения кислот в раствор перекиси их влияние, как правило, зависит не от природы аниона, а определяется исключительно влиянием константы диссоциации. Такие особенности взаимодействия перекиси с органическими кислотами позволяют разрабатывать дезинфицирующие композиции с широким спектром бактерицидного действия [1, 2, 4]. Одним из таких средств является средство дезинфицирующее «Криокс», ТУ ВУ 600049853.188-2014.

Средство дезинфицирующее «Криокс» разработано в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», состоит из перекиси водорода, надкислотных групп (продуктов каталитического взаимодействия уксусной и янтарной кислот), стабилизатора (секвион) и воды питьевой. Стабилизатором в дезинфицирующем средстве «Криокс» служит модифицированная фосфоновая кислота, стабилизированная и забуференная. Используется в традиционных рецептурах

моющих средств и дезинфектантов. Применяется в качестве комплексообразователя, ингибитора коррозии и ингибитора осаждения, устойчивого к окисляющим агентам, образует растворимые комплексы с ионами металлов; стабилизирует коллоидные системы; защищает металлические поверхности, контактирующие с жидкостями; не разлагается в водных растворах при экстремальных значениях рН и температуры. Эти все свойства особенно актуальны при разработке средств дезинфекции, содержащих быстроактивный компонент – перекись водорода.

Стабилизатор – это добавка, которая вносится для связывания с ионами металла, что способствует блокировке их активности, предотвращает нежелательные реакции, например окисления, ферментативного распада, осаждения. Соединения такого типа в химии называют комплексами, из-за чего добавки еще называют комплексообразователями. За счет ввода в средство дезинфицирующее «Криокс» стабилизатора был получен синергетический комплекс, повышающий биоцидные свойства надкислот и перекиси водорода, не обладающий коррозионным воздействием на обрабатываемые поверхности и увеличивающий стабильность средства.

Средство дезинфицирующее «Криокс» внесено в реестр ветеринарных препаратов Республики Беларусь. Представляет собой прозрачную бесцветную жидкость, хорошо растворимую в воде. Срок применения концентрата – 12 месяцев. Средство предназначено для проведения профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции объектов ветеринарного надзора по отношению к группам малоустойчивых (первая группа), устойчивых (вторая группа) и высокоустойчивых (третья группа) возбудителей, активно по отношению к возбудителям, вызывающим болезни пчел (*Melissococcus pluton*, *Bacillus alvei*, *Bacillus laterosporus*, *Bacillus paraalvei*, *Pseudomonas apisepiticum*, *Ascospaera apis*, *Nosema apis*, *Malpighamoeba mellifical*).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Опыт по исследованию эффективности дезинфицирующего средства «Криокс» методом полива помещений без животных и аэрозольной дезинфекции в присутствии телят I периода выращивания проводили на базе животноводческого хозяйства Копыльского района Минской области, а также на пчелопасеке РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».

Для дезинфекции животноводческих помещений методом полива в отсутствие животных, после тщательной механической очистки, использовали свежеприготовленный 1%-ный водный раствор дезинфицирующего средства «Криокс» из расчета 0,5 л/м² перед размещением поголовья в зданиях, экспозиция 3 ч.

После дезинфекции 1%-ным рабочим раствором средства «Криокс» методом полива, экспозиция 3 ч, отбирали смывы с поверхностей помещений (пол, стена, кормушка) с целью контроля качества проведенной дезинфекции.

Для проведения опыта по аэрозольной санации помещений для телят в присутствии животных были сформированы 2 группы в среднем по 200 голов, возраст 1,5–2 месяца. Обработку вели по схеме: при комплектовании групп – 3 дня подряд, в дальнейшем первый месяц – дважды в неделю с интервалом 3–4 дня, второй месяц – 1 раз в 7 дней.

После размещения животных в помещениях отобраны смывы с поверхностей помещения (пол, стена, кормушка, поилка) и пробы воздуха для определения микробного фона, пробы со слизистой носовых ходов.

Согласно схеме обработок, во время и после размещения поголовья в опытной группе проводили аэрозольную обработку 3%-ным рабочим раствором средства из расчета 0,02 л/м³ генератором холодного тумана «Циклон» (Литва) при отключенной вентиляции, закрытых окнах и дверях, экспозиция 1 ч. В контрольном помещении аэрозольная дезинфекция не проводилась.

Обработке дезинфицирующим средством «Криокс» также подвергались объекты пчеловодства: ульи, соты, инвентарь, оборудование, спецодежда пчеловодов, зимовники, сотохранилища, пчеловодные домики, а также территории пасеки (предлетковые площадки), воск (воскосырье).

Дезинфекцию объектов пчеловодства проводили с профилактической целью в весенний период после окончания зимовки пчел 1 раз рабочим 3%-ным раствором средства из расчета 0,5 л/м² направленным аэрозолем, экспозиция 1 ч. Для получения аэрозоля дезинфицирующего средства «Криокс» использовали аэрозольный генератор «Харрикейн» (США), производительность 1–20 л/ч (допускается использование садового аэрозольного распылителя).

Перед началом процесса дезинфекции проводили механическую очистку объектов, подлежащих обеззараживанию. Ульи, разделительные и потолочные доски, инвентарь и оборудование очищали от загрязнений и прополиса на бетонированной площадке с навесом и закрытой ямой для сточных вод, удаленной на 200 м от пасеки.

Сухой материал предварительно орошали 0,5%-ным дезинфицирующим раствором «Криокс». Затем со дна ульев собирали трупы пчел, мусор и сжигали. Очистку осуществляли металлическим скребком, при сильной загрязненности промывали ульи горячей водой или при помощи щеток и мочалок.

Пустые соторамки сортировали, очищали от загрязнений и дезинфицировали в недоступном для пчел помещении 3%-ным раствором дезинфицирующего средства «Криокс» из расчета 0,5 л/м². Соты для вывода расплода, использующиеся более двух лет, а также с черными непросвечивающимися стенками, с заплесневевшей пергой, забродившим медом, сильно загрязненные фекалиями пчел, поврежденные грызунами или неправильно отстроены, браковали, складывали в ящики или бочки, плотно утрамбовывали для последующей переработки на воск.

Деревянные планки соторамок, пригодные для дальнейшего использования,

тщательно очищали металлическим скребком от загрязнений, воска и прополиса.

После обработок дезинфицирующим средством «Криокс» необходимость смыва средства отсутствовала ввиду быстрой биоразлагаемости рабочих растворов препарата.

В дальнейшем в активный пчеловодный сезон ульи, соты и инвентарь подвергались обеззараживанию перед их использованием для размещения роев, отводков и пакетов пчел 3%-ным раствором «Криокс» при расходе 0,5 л/м², экспозиция 1 ч, спецодежда – по мере ее загрязнения 3%-ным водным раствором.

Во время проведения опыта по дезинфекции пчелопасек дезинфицирующим средством «Криокс» территорию очищали от травы, мусора, подмора пчел и погибшего расплода, которые собирали и сжигали, один раз в неделю.

После обработок проводили контроль качества дезинфекции согласно «Методическим указаниям по контролю качества дезинфекции и санитарной обработке объектов, подлежащих ветеринарно-санитарному надзору» (Минск, 2007).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Нами были проведены опыты по определению эффективности использования дезинфицирующего средства «Криокс» в помещениях для содержания молодняка крупного рогатого скота I периода выращивания.

На первом этапе животноводческие помещения освобождали от животных, проводили механическую очистку и мойку и орошали поверхности рабочим раствором средства «Криокс». После удовлетворительных результатов по качеству дезинфекции в обработанных помещениях размещали телят I периода выращивания (в возрасте 1,5–2 месяцев). После размещения и комплектования групп телят (срок комплектования 3 дня) была проведена первая аэрозольная санация воздуха в присутствии животных с использованием генератора холодного тумана «Циклон» (температура рабочего раствора 15 °С), и после

соответствующей экспозиции были отобраны пробы воздуха для бактериологических исследований. В результате дезинфекции аэрозольным способом в присутствии телят, экспозиция 1 ч, отмечается полное отсутствие микроорганизмов в воздухе. Однако уже через 24 ч в воздухе появляются микроорганизмы, выделяемые с

дыханием и продуктами жизнедеятельности телят.

Когда общая микробная обсемененность воздуха была на уровне или превышала нормативные показатели для данной группы животных, мы проводили очередную дезинфекцию. Схема обработок отмечена в таблице 1.

Таблица 1. – Общая микробная обсемененность воздуха при проведении аэрозольной дезинфекции в присутствии животных дезинфицирующим средством «Криокс»*

Номер дезинфекции и срок проведения следующей		Общая микробная обсемененность воздуха, КОЕ/м ³	
группа	часы	опыт	контроль
1-я, через	1	–	–
	24	17000 ± 1500	22600 ± 2600
	48	49000 ± 1800	49700 ± 13300
	72	129500 ± 13500	129000 ± 13800
2-я, через	1	–	–
	72	90000 ± 1680	196000 ± 187000
3-я, через	1	–	–
	96	47000 ± 1300	150300 ± 9850
	120	89000 ± 3940	195000 ± 6150
4-я, через	1	–	–
	120	49000 ± 1085	150300 ± 8630
	168	91000 ± 7480	194000 ± 8160
5-я, через	1	–	–
	120	47000 ± 8700	168500 ± 7250
	168	50000 ± 1450	192500 ± 12800
6-я и последующие, через	1	–	–
	24	–	–
	168	49500 ± 1850	205300 ± 6200

Примечание – *допустимая концентрация для данной группы животных – не более 50000 КОЕ/м³

Как видно из таблицы, каждая последующая дезинфекция (1 раз в 7 дней) на протяжении 60 дней (срок проведения опыта) позволяла снизить микробную обсемененность воздуха к 7 дню на уровне пола и уровне стояния животных и обеспечивала поддержание уровня микробной обсемененности помещения в пределах нормативных показателей для данного вида и возраста животных. Бактериологическими исследованиями на дифференциально-диагностических средах, микроскопией мазков с выросших колоний, определением ферментативных свойств и патогенности

на лабораторных животных в загонах для содержания телят до проведения дезинфекции выделялись культуры *Escherichia coli*, *Clebsiela pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae*, патогенные для лабораторных животных, а также протей, грибы и анаэробы. После проведения опыта по эффективности санации дезинфицирующим средством «Криокс» выделяли непатогенные кокковую микрофлору, грибы.

Так, нами была отработана наиболее оптимальная схема обработки средством дезинфицирующим «Криокс», при которой

микробный фон помещения находился в пределах рекомендуемых показателей, а именно: в период комплектации секторов животными – ежедневно, а после заполнения помещений животными – не реже одного раза в неделю.

В контрольном помещении, где аэрозольная обработка не проводилась, количество микробов колебалось на уровне от 129000 ± 13800 в начале опыта до 205300 ± 6200 КОЕ/м³ воздуха по окончании опыта, что выше установленных нормативов.

При исследовании смывов со слизи-

стой оболочки верхних дыхательных путей телят опытной группы до обработки установлено, что количество микроорганизмов в среднем составило 75300 КОЕ/см³. После разовой обработки дезинфицирующим средством «Криокс» через 24 часа этот показатель находился на уровне 22800 КОЕ/см³, после 3 обработок – 12100, в конце опыта – 8400 соответственно.

В контрольной группе количество микробов в смывах из носовой полости составляло 77700, 78900, 80200 и 81300 КОЕ/см³ соответственно.

Таблица 2. – Бактериологические исследования смывов со слизистой оболочки верхних дыхательных путей

Группа	Микробная обсемененность верхних дыхательных путей телят, КОЕ/см ³			
	до обработки	через 24 ч после обработки	после трех обработок	в конце опыта
Опыт	75300	22800	12100	8400
Контроль	77700	78 900	80200	81300

На дифференциальных средах до обработки помещения в смывах из носовой полости выделяли грибы, кишечную палочку (патогенные), протей и кокковую микрофлору (патогенные). Через 24 ч после первой обработки дезинфицирующим средством «Криокс» выделяли кокковую микрофлору (патогенные), после третьей обра-

ботки выделяемая микрофлора в смывах из носовых ходов не была патогенной для белых мышей.

Гематологические показатели телят, находившихся в опыте по использованию дезинфицирующего средства «Криокс», представлены в таблице 3.

Таблица 3. – Гематологические показатели телят в опыте по эффективности использования дезинфицирующего средства «Криокс»

Группа	Гемоглобин, г/л	Эритроциты 10 ¹² /л	Лейкоциты 10 ⁹ /л	Общий белок, г/л	Титр агглютининов	Гамаглобулины, ед. изм	БАСК, %	Фагоцитарная активность нейтрофилов, %
в начале опыта								
Опыт	110,2± 2,96	6,00± 0,11	6,15± 0,25	61,5± 0,34	1:8± 1,2	20,07± 0,51	72,8± 2,1	83,3± 1,80
Контроль	114,7± 3,01	6,01± 0,11	6,13± 0,26	61,3± 0,42	1:8± 1,2	20,25± 0,48	73,1± 1,9	84,3± 1,75
в конце опыта								
Опыт	125,2± 3,45	6,45± 0,14	6,32± 0,23	67,14± 2,03	1:16± 3,1	22,10± 0,52	75,4± 2,2	88,2± 1,65
Контроль	119,5± 3,06	6,23± 0,10	6,24± 0,18	64,1± 1,92	1:12± 2,4	18,7± 0,53	71,8± 2,6	85,1± 1,41

Как видно из таблицы, наблюдается тенденция к улучшению показателей естественной резистентности животных опытной группы по сравнению с контрольной.

В опытах на пчелопасеке было установлено, что микробная обсемененность элементов улья различна. Наиболее загрязненными были дно ульев и потолочины (количество выросших колоний достигало 910367 ± 15065 КОЕ/см³ и 89400 ± 1300 КОЕ/см³ соответственно). После проведенной дезинфекции средством «Криокс» рост микроорганизмов отсутствовал во всех смывах с обрабатываемых объектов, что свидетельствует о высоком качестве дезинфектанта.

ВЫВОДЫ

1. Обработка помещений животноводческого комплекса по содержанию молодняка крупного рогатого скота в отсутствии животных методом полива дезинфицирующим средством «Криокс» в 1,0%-ной концентрации с расходом 0,5 л/м², экспозиция 3 ч, обеспечивает удовлетворительное качество проведенной дезинфекции.

2. Аэрозольную обработку дезинфицирующим средством «Криокс» в присутствии животных (телят) 3,0%-ным раствором средства при расходе 0,02 л/м³, экспозиция 1 ч, согласно приведенной схеме

позволяет сохранять микробный фон в помещениях для животных в пределах допустимых нормативов для данного вида и возраста животных: при комплектовании групп – 3 дня подряд, в первый месяц содержания – дважды в неделю с интервалом 3–4 дня, второй месяц и до окончания технологического периода – один раз в 7 дней.

3. До обработки помещения в смывах из носовой полости выделяли грибы, кишечную палочку (патогенные), протей и кокковую микрофлору (патогенные). После применения схемы обработки дезинфицирующим средством «Криокс» в смывах из носовых ходов выделяемая микрофлора не была патогенной.

4. Для профилактической дезинфекции объектов пчеловодства направленными аэрозолями можно рекомендовать использовать средство дезинфицирующее «Криокс» из расчета 0,5 л/м² в виде 13%-ного рабочего раствора при экспозиции 1 ч. После применения средства не требуется промывка объектов пчеловодства чистой водой, т.к. препарат в течение 1–2 ч биоразлагается на кислород и воду.

ЛИТЕРАТУРА

1. Высоцкий, А.Э. Методы испытания противомикробной активности дезинфицирующих препаратов в ветеринарии / А.Э. Высоцкий, С.А. Иванов // *Ветеринарная медицина Беларуси*. – 2005. – № 1. – С. 46–48.
2. Иванов, В.Г. Обеззараживание объектов ветеринарно-санитарного надзора. Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии / В.Г. Иванов, С.Г. Журенко // *Российский журнал*. – 2009. – № 2. – С. 31–34.
3. Кудрявцева, Е.Е. Современный подход к выбору дезинфицирующих средств в лечебно-профилактическом учреждении / Е.Е. Кудрявцева, А.В. Железный, Л.С. Манькович // *Мир вирусных гепатитов*. – 2003. – № 11 (ноябрь). – 28 с.
4. Спиридонов, С.Б. Дезинфекция в помещениях для коров / С.Б. Спиридонов // *Учен. записки Витебской ордена «Знак Почета» гос. акад. вет. медицины*. – 2015. – Т. 51. – Вып. 2. – С. 72–74.
5. Шандала, М.Г. Методологические проблемы современной дезинфектологии / М.Г. Шандала // *Актуальные проблемы дезинфектологии в профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний: материалы Всероссийской науч. конф., посвященной 100-летию со дня рождения В.И. Вашкова*. – М.: ИТАР-ТАСС, 2002 – 244 с.

Борисовец Д.С., кандидат ветеринарных наук, доцент
Журавлева Е.С., кандидат ветеринарных наук
Морозов А.М., младший научный сотрудник
Кривец Д.А., технолог

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

ВЫДЕЛЕНИЕ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS SPP.* ИЗ ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ПРЭСНОВОДНЫХ ВОДОЕМОВ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

Резюме

Объектом исследования являлись штаммы бактерий рода *Bacillus spp.*, выделенные из донных отложений пресноводных водоемов.

Цель исследования – получение штаммов-продуцентов биологически активных соединений микроорганизмов рода *Bacillus*, выделенных из донных отложений пресноводных водоемов, изучение их биологических свойств.

В процессе работы проведен отбор и анализ состава образцов донных отложений пресноводных водоемов различных областей Республики Беларусь и выделение из них штаммов микроорганизмов рода *Bacillus*. Изучены морфолого-культуральные и физиологические особенности, установлен химический состав продуктов метаболизма выделенных штаммов (содержание белка, количество аминокислот, витаминов, ферментов и т.д.).

Summary

The object of the study was bacterial strains of the genus *Bacillus spp.*, isolated from the bottom sediments of freshwater ponds.

The purpose of the study was to obtain producer strains of biologically active compounds of microorganisms of the genus *Bacillus* isolated from the bottom sediments of freshwater ponds, to study their biological properties.

In the process of work, the selection and analysis of the composition of samples of bottom sediments of freshwater ponds of various regions of the Republic of Belarus and the isolation of microbial strains of the genus *Bacillus* from them were carried out. The morphological-cultural and physiological features were studied, the chemical composition of the metabolic products of the isolated strains (protein content, amount of amino acids, vitamins, enzymes, etc.) was established.

Поступила в редакцию 13.11.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодный рост мирового рынка биотехнологий составляет 7–9 %. Предполагается, что к 2025 году этот показатель достигнет уровня в 2 трлн долларов США [6, 8].

Микроорганизмы – бактерии, дрожжи и микроскопические мицелиальные грибы – основные промышленные объекты биотехнологии, имеющие высокую скорость роста, способные расти на дешевых питательных средах и обладающие пластичным метаболизмом, протекающим с высокой скоростью и эффективностью [3, 4, 10].

В настоящее время в развитых странах разработана и широко используется стратегия селекционной работы с микроорганизмами, которая заключается в поиске природных форм, обладающих какими-либо полезными для человека свойствами (синтез ценных соединений, высокая скорость роста, пробиотические свойства, способность к усвоению дешевых и доступных субстратов и т.д.), а также дальнейшем их улучшении [8].

Способность спорообразующих бактерий оказывать пробиотическое действие привела к разработкам на их основе препа-

ратов, отнесенных к поколению самоэлиминирующихся антагонистов. В мире создано более полусотни препаратов на основе *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. clausii*, *B. Polyfermentans*, *B. cereus* и др. (N.T. Hoa et al., 2000; K.H. Lee et al., 2001) [7–9].

По уровню биотехнологических исследований и разработок Республика Беларусь отстает от развитых стран. Отечественные биопрепараты значительно дешевле иностранных, однако более 70 % потребностей республики в них удовлетворяются за счет дорогостоящего импорта. Рынок биотехнологической продукции Республики Беларусь составляет около 400 млн долларов США, из них продукция отечественного производства составляет менее 20 %. Неблагоприятная ситуация сложилась и в области микробиологической промышленности ввиду того, что выпускаемая продукция в ряде случаев малорентабельна из-за низкой активности исходных микробиологических штаммов [3, 5].

Сложившаяся ситуация создает предпосылки для выделения природных форм микроорганизмов рода *Bacillus*, обладающих полезными свойствами (синтез ценных биологически активных соединений, высокая скорость роста) и перспективных в пробиотическом отношении, их селекции и дальнейшего улучшения, а также конструирования на их основе промышленных штаммов с заданными свойствами.

Цель работы – получение штаммов-продуцентов биологически активных соединений микроорганизмов рода *Bacillus*, выделенных из донных отложений пресноводных водоемов, изучение их биологических свойств и оценка возможности их использования в качестве продуцентов биологически активных соединений в биотехнологии и сельском хозяйстве.

Этапы работы:

1. Провести отбор образцов донных отложений пресноводных водоемов различных областей Республики Беларусь и выделить из них штаммы микроорганизмов рода *Bacillus*.

2. Изучить морфолого-культуральные

особенности и идентифицировать видовую принадлежность штаммов рода *Bacillus*.

3. Изучить химический состав продуктов метаболизма выделенных штаммов (количество аминокислот, витаминов, ферментов и т.д.) и оценить уровень их продукции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа проводилась в отделе вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского».

На первом этапе был проведен отбор образцов донных отложений из 11 пресноводных водоемов, находящихся в Гомельской, Витебской и Минской областях Республики Беларусь.

В качестве селективной среды для выделения бактерий рода *Bacillus* использовали Spizizen's minimal salts (SMS) [1]. Выделение и идентификацию бактериальных изолятов проводили согласно схеме выделения и идентификации Желдакова Р.А. [2].

На втором этапе морфолого-культуральные свойства выделенных изолятов рода *Bacillus* изучали с помощью общепринятых микробиологических методов – фиксировали цвет, размер, консистенцию колоний на плотной среде, гладкость краёв, прозрачность, проводили окрашивание мазков по Граму методом Fluka, а также окраску бактериальных спор по методу Шеффера-Фултона.

Идентификацию выделенных изолятов проводили на автоматическом микробиологическом анализаторе VITEK 2 compact.

На третьем этапе продукты метаболизма полученных изолятов были исследованы на наличие ферментов, витаминов и аминокислот.

Определение ферментов:

Сахаролитические ферменты (амилаза). Среда для детекции – крахмальный агар (агар с 0,2 % крахмала) и раствор Люголя. Положительная реакция – при нанесении раствора йода на среду с 18–24-часо-

вой культурой микроорганизмов, вокруг колоний с амилазной активностью образуется светлый неокрашенный ореол, остальная среда приобретает сине-фиолетовый цвет из-за присутствия в ней крахмала.

Протеолитические ферменты. Среда для детекции – SMS (агар с 1 % обезжиренного молока в качестве источника белка). Положительная реакция – через 18–24 часа вокруг колоний с протеолитической активностью образуется светлый неокрашенный ореол, цвет остальной среды остается без изменения.

Целлюлолитические ферменты (целлюлазы). Среда для детекции – агар с карбоксиметилцеллюлозой (агар с 0,2%-ной

целлюлозой) и 0,1%-ный раствор Конго красный. Положительная реакция – при нанесении раствора конго красного на среду с 42–48-часовой культурой микроорганизмов вокруг колоний с целлюлозной активностью образуется светлый менее окрашенный ореол, остальная среда приобретает насыщенный красный цвет из-за присутствия в ней целлюлозы.

Качественные реакции на определение витаминов представлены в таблице 1.

Наличие белка определяли биуретовой реакцией. Качественные реакции на определение аминокислот представлены в таблице 2.

Таблица 1. – Определение витаминов

Витамин	Качественная реакция
B ₁	с железосинеродистым калием
B ₂	восстановления витамина B ₂ водородом
B ₃	с ацетатом меди
B ₁₂	с тиомочевинной
C	восстановления метиленовой сини витамином C

Таблица 2. – Определение аминокислот

Аминокислота	Качественная реакция
Триптофан	Шульца-Распайля
Аргинин	Сакагучи
Цистеин и цистин	Фоля
Глицин	со свежесажженным гидроксидом меди
α -аминокислоты, содержащие ароматические радикалы (тирозин, триптофан, фенилаланин)	ксантопротеиновая

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На первом этапе проведен отбор и анализ состава образцов донных отложений пресноводных водоемов различных областей Республики Беларусь и выделение из них штаммов микроорганизмов рода *Bacillus*. Всего отобрано 11 образцов тонко- и грубодетритных донных отложений пресноводных водоемов Гомельской, Витебской и Минской областей Республики Беларусь, из которых выделено 15 природных изолятов бактерий.

Данные, полученные при проведении серии опытов по выделению и идентификации, представлены в таблицах 3–4.

Все отобранные изоляты являются грамположительными, спорообразующими и имеют форму палочек, кроме штамма № 5, который имеет форму теннисной ракетки. Таким образом, все изоляты были выбраны для идентификации.

Выделенным и идентифицированным в процессе проведенных исследований 12 природным изолятам бактерий рода *Bacillus* были присвоены обозначения, содержащие буквенный код, соответствующий области Республики Беларусь, в которой он был выделен: G – Гомельская, V – Витебская, M – Минская.

Таблица 3. – Грампринадлежность и наличие спор полученных бактериальных изолятов

Изолят	Грампринадлежность	Наличие спор	Форма клеток
1	+	+	длинные тонкие септированные палочки
2	+	+	короткие септированные палочки
3	+	+	короткие септированные палочки
4	+	+	длинные толстые палочки
5	+	+	средние палочки с утолщением на конце (теннисная ракетка)
6	+	+	крупные толстые равномерно окрашенные палочки
7	+	+	средние овоидные палочки
8	+	+	средние толстые биполярно окрашенные палочки
9	+	+	короткие септированные палочки
10	+	+	средние толстые биполярно окрашенные палочки
11	+	+	крупные толстые равномерно окрашенные палочки
12	+	+	короткие септированные палочки
13	+	+	длинные тонкие септированные палочки
14	+	+	длинные толстые палочки
15	+	+	длинные тонкие септированные палочки

Примечание – «+» – наличие спор

Таблица 4. – Результаты идентификации выделенных микроорганизмов на автоматическом микробиологическом анализаторе VITEK 2 compact

Изолят	Буквенный код	Идентификационное название	Степень идентификации
1	V2	<i>Bacillus licheniformis</i>	93 %
2	G1	<i>Bacillus subtilis</i>	94 %
3	V1	<i>Bacillus subtilis</i>	93 %
4	M2	<i>Bacillus cereus</i>	91 %
5	M5	<i>Lysinibacillus sphaericus</i>	92 %
6	M4	<i>Bacillus megaterium</i>	98 %
7	-	Не идентифицирован	-
8	-	Не идентифицирован	-
9	G2	<i>Bacillus subtilis</i>	85 %
10	-	Не идентифицирован	-
11	G4	<i>Bacillus megaterium</i>	93 %
12	M1	<i>Bacillus subtilis</i>	95 %
13	V3	<i>Bacillus licheniformis</i>	98 %
14	M3	<i>Bacillus cereus</i>	90 %
15	G3	<i>Bacillus licheniformis</i>	90 %

По данным таблицы 4, из 15 выделенных изолятов было идентифицировано 12 штаммов, при этом степень идентификации составила от 85 до 99 %.

Результаты изучения морфолого-культуральных свойств выделенных изолятов, полученные на втором этапе исследований, представлены в таблице 5.

Таблица 5. – Морфолого-культуральные свойства выделенных изолятов бактерий рода *Vacillus*

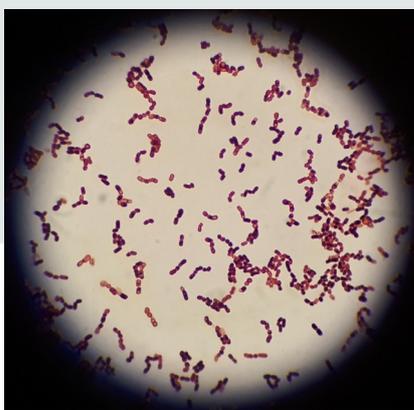
Вид бактерий	Штамм	Морфология колоний				Морфология клеток			Грампринадлежность	Наличие спор
		Форма	Размер, мм	Цвет	Профиль	Край	Морфология клеток	Морфотип клеток		
<i>B. subtilis</i>	G1		2,5–3,0	кремовый	мелкоморщистый	волнистый	короткие сегментированные палочки	+		
	V1	округлая	2,5	серовато-белый						
	G2		3,0	серовато-белый						
	M1		2,5–3,0	серовато-белый						
<i>B. licheniformis</i>	V2		4,0–6,0	непрозрачный белесый	слабовыпуклый сухой	волнистый	длинные тонкие сегментированные палочки	+		
	V3	округлая	4,0–6,0	бледно-кремовый с кремовато-сероватым центром	слабовыпуклый сухой	зубчатый				
	G3		4,0–6,0	кремово-розовый	слабовыпуклый сухой	лопастной				
<i>B. cereus</i>	M2		1,5–2,0	серовато-беловатый	выпуклый	изрезанный	длинные толстые палочки	+		
	M3	округлая	1,5–2,0	серовато-беловатый						выпуклый
<i>B. megaterium</i>	M4		3,0–5,0	кремовый	плоский шероватый матовый	волнистый	крупные толстые равномерно окрашенные палочки	+		
	G4	округлая	3,0–5,0	кремовый						
<i>Lyxibacillus sphaericus</i>	M5	округлая	2,0–3,0	розовый	матовый	изрезанный	средние палочки с утолщением на конце (теннисная ракетка)	+		

Из таблицы 5 видно, что все выделенные штаммы бацилл отличались друг от друга в зависимости от вида по морфологии колоний и клеток. При этом размеры колоний варьировали от 1,5 до 6,0 мм. При окраске по Граму все изоляты были грамположительными, спорообразующими и имели форму палочек, кроме штамма *Lysinibacillus sphaericus* M5, имеющего форму теннисной ракетки. В связи с неудовлетворительным ростом изолята *Lysiniba-*

cillus sphaericus на селективной среде Spizizen's minimal salts (SMS) он был исключен из исследований.

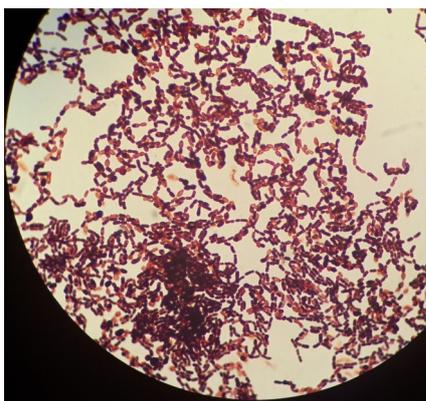
На третьем этапе был изучен химический состав продуктов метаболизма 11 из 12 выделенных штаммов (амилолитическая, целлюлолитическая, протеолитическая активность, продукция аминокислот и витаминов).

На рисунках 1–4 представлена морфология штаммов *B. Subtilis*.



Амилолитическая активность – зона просветления 2 см; целлюлолитическая активность отсутствует; протеолитическая активность – зона просветления 1,5 см; витамины не продуцирует; продуцирует глицин, других аминокислот не обнаружено

Рисунок 1. – *B. subtilis* (изолят G1)



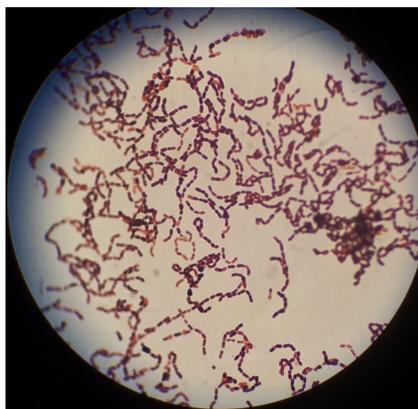
Амилолитическая активность – зона просветления 3,1 см; целлюлолитическая активность – зона просветления 2,1 см; протеолитическая активность – зона просветления 1,3 см; витамины не продуцирует; продуцирует глицин

Рисунок 3. – *B. subtilis* (изолят G2)



Амилолитическая активность – зона просветления 1 см; целлюлолитическая активность – зона просветления 1 см; протеолитическая активность – зона просветления 1,2 см; витамины не продуцирует; продуцирует глицин, других аминокислот не обнаружено

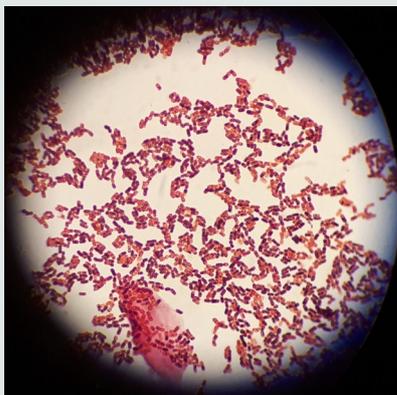
Рисунок 2. – *B. subtilis* (изолят V1)



Амилолитическая активность – зона просветления 4,1 см; целлюлолитическая активность – зона просветления 2,6 см; протеолитическая активность – зона просветления 1,5 см; витамины не продуцирует; продуцирует глицин

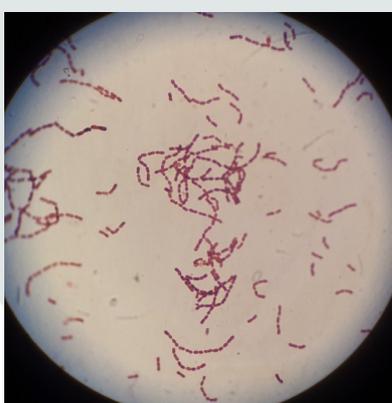
Рисунок 4. – *B. subtilis* (изолят M1)

На рисунках 5–7 представлена морфология штаммов *B. Licheniformis*.



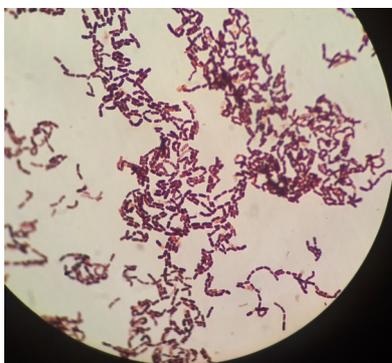
Амилолитическая активность – зона просветления 2,3 см; целлюлолитическая активность – зона просветления 1,5 см; протеолитическая активность – зона просветления 2,1 см; продуцирует витамины – тиамин и никотиновую кислоту; обнаружена смесь аминокислот (ксантопротеиновая реакция даёт оранжевое окрашивание)

Рисунок 5. – *B. licheniformis* (изолят V2)



Амилолитическая активность – зона просветления 1,4 см; целлюло- и протеолитической активностью не обладает; витамины не продуцирует; обнаружена смесь аминокислот (ксантопротеиновая реакция даёт оранжевое окрашивание)

Рисунок 6. – *B. licheniformis* (изолят V3)



Амилолитическая активность – зона просветления 2,8 см; целлюлолитическая активность – зона просветления 2,6 см; протеолитическая активность – зона просветления 2 см; витамины не обнаружены; обнаружена смесь аминокислот (ксантопротеиновая реакция даёт оранжевое окрашивание)

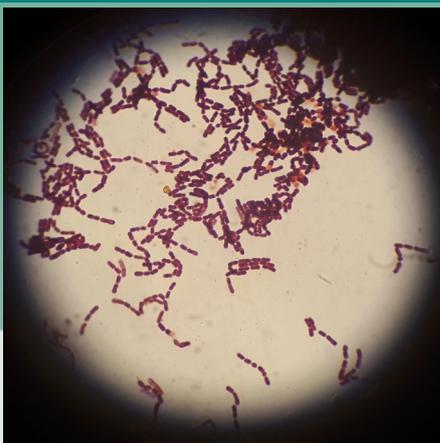
Рисунок 7. – *B. licheniformis* (изолят G3)

На рисунках 8–9 представлена морфология штаммов *B. Cereus*.



Амило- и целлюлолитической активностью не обладает; протеолитическая активность – зона просветления 3 см; витамины не продуцирует; аминокислоты не определяются

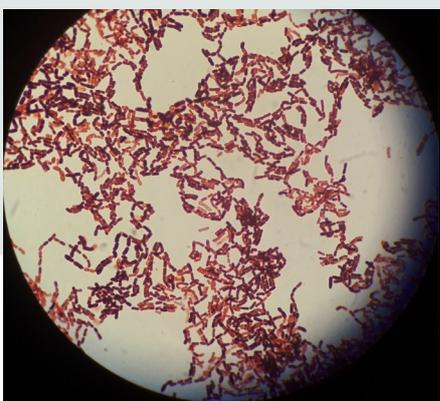
Рисунок 8. – *B. cereus* (изолят M2)



Амилолитическая активность – зона просветления 1 см;
целлюлолитической активностью не обладает;
протеолитической активностью – зона просветления 2 см;
продуцирует витамины – тиамин; биуретовая реакция
положительная, дальнейшее определение аминокислот
отрицательное – концентрация
продуцируемых аминокислот очень низкая

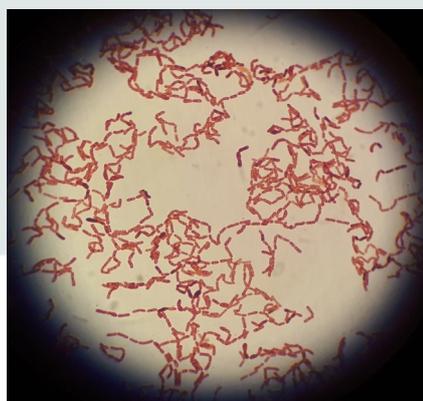
Рисунок 9. – *B. cereus* (изолят М3)

На рисунках 10–11 представлена морфология штаммов *B. Megaterium*.



Амилолитическая активность – зона
просветления 3,5 см; целлюлолитическая
активность – зона просветления 3,5 см;
протеолитическая активность – зона
просветления 1,5 см;
продуцирует витамины – витамин В12;
продуцирует глицин

Рисунок 10. – *B. megaterium* (изолят М4)



Амилолитическая активность – зона
просветления 4,1 см; целлюлолитическая
активность – зона просветления 1,8 см;
протеолитическая активность – зона
просветления 1,3 см;
обнаружен витамин В12;
продуцирует триптофан

Рисунок 11. – *B. megaterium* (изолят G4)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В процессе исследований выделено 15 природных изолятов бактерий из донных отложений пресноводных водоемов Гомельской, Витебской и Минской областей Республики Беларусь. Среди полученных микроорганизмов по культурально-морфологическим признакам было идентифицировано 12 изолятов, которые были отнесены к роду *Bacillus* (*B. subtilis* – 4 изолята, *B. licheniformis* – 3, *B. cereus* – 2, *Bacillus megaterium* – 2, *Lysinibacillus sphaericus* – 1).

2. Выявлены морфолого-культуральные особенности 12 выделенных изолятов

рода *Bacillus*, которые имели характерные отличия в зависимости от вида по морфологии колоний и клеток, при этом все штаммы бактерий являлись грамположительными и имели споры.

3. Из 11 выделенных штаммов 10 изолятов обладали амилолитической активностью с зоной просветления от 1 до 4,1 см; 7 изолятов характеризовались целлюлолитической активностью с зоной просветления от 1 до 3,5 см; протеолитическая активность была выявлена у 10 изолятов (зона просветления 1,2–3 см).

4. Витамины были обнаружены у 4 из 11, среди которых у 2 изолятов выявлен

витамин В12, у 2 – тиамин и никотиновая кислота; продукция аминокислот выявлена у 9 изолятов, среди которых 5 продуцировали глицин, 1 – триптофан, у 3 обнаружена смесь аминокислот (ксантопротеиновая

реакция даёт оранжевое окрашивание), что в дальнейшем обуславливает возможность их использования в качестве продуцентов биологически активных соединений в биотехнологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Anagnostopoulos, C. Requirements for transformation in *Bacillus subtilis* / C. Anagnostopoulos, J. Spizizen, // *J. Bacteriol.* – 1961. – Vol. 81. – P. 741–746.

2. Выделение и идентификация микроорганизмов / Авт-сост. Р.А. Желдакова. – Минск: БГУ, 2003. – 27 с.

3. Влияние препарата на основе фитолектинов и пробиотиков «Метафитохит» на обменные процессы телят при энтеритах / П.А. Красочко [и др.] // *Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии: материалы V Междунар. съезда ветеринарных фармакологов и токсикологов, Витебск, 26–30 мая 2015 г. / УО ВГАВМ; редкол: А.И. Ятусевич (гл. ред.) [и др.]. – Витебск, 2015. – С. 105–109.*

4. Идентификация и изучение свойств природных микроорганизмов, выделенных из донных отложений пресноводных водоемов / П.А. Красочко [и др.] // *Актуальные проблемы биотехнологии в аграрно-промышленном комплексе: материалы междунар. науч.-практ. конф., Минск, 26-27 ноября 2015 г. / РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»; редкол. П.А. Красочко (гл. ред.) [и др.]. – Минск: ИВЦ Минфина, 2015. – С. 97–100.*

5. Лечебная и профилактическая эффективность про- и пребиотических препаратов при инфекционных энтеритах телят / П.А. Красочко [и др.] // *Актуальные проблемы биотехнологии в аграрно-промышленном комплексе: материалы междунар. науч.-практ. конф., Минск, 26-27 ноября 2015 г. / РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»; редкол. П.А. Красочко (гл. ред.) [и др.]. – Минск: ИВЦ Минфина, 2015. – С. 114–117.*

6. Пестис, В.К. Пробиотики в животноводстве и ветеринарии / В.К. Пестис, М.А. Каврус, А.Н. Михалюк. – Гродно: Гродн. гос. аграр. ун-т, 2006. – 94 с.

7. Каврус, М.А. Гигиенические аспекты использования пробиотических препаратов в животноводстве / М.А. Каврус, В.В. Малашко // *Ветеринар. наука – пр-ву.* – 2005. – № 38. – С. 242–246.

8. Олива, Т.В. Производство экологически безопасной продукции животноводства путем направленного формирования бактериоциноза кишечника молодняка животных / Т.В. Олива // *Мировой опыт и перспективы развития сельского хозяйства: материалы Междунар. конф., посвящ. 95-летию Воронеж. гос. аграр. ун-та, Воронеж, 23–24 окт. 2007 г. / Воронеж. гос. аграр. ун-т. – Воронеж, 2008. – С. 115–117.*

9. Беденко, А. Пробиотики в рационе молодняка крупного рогатого скота: опыты на телятах молочного периода в ФРГ / А. Беденко // *Молоко & Корма. Менеджмент.* – 2007. – № 4. – С. 32–34.

10. Лысак, В.В. Микробиология: метод. рекомендации к лабораторным занятиям, контроль самостоятельной работы студентов / В.В. Лысак, Р.А. Желдакова, – Минск: БГУ, 2002. – 97 с.

Средство дезинфицирующее «АЛЬДЕЧАС»



Обладает антимикробным действием в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, вирусов и грибов. Эффективно против возбудителей первой-третьей групп чувствительности к дезинфектантам.

НОВИНКА!!!



WWW.BIEVM.BY

Степанова Е.А., кандидат ветеринарных наук, доцент
Кузьминский И.И., кандидат ветеринарных наук, доцент
Лиленко А.В., кандидат ветеринарных наук, доцент

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

ВОЗБУДИТЕЛИ МАСТИТА У КОРОВ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИМИКРОБНОЙ ТЕРАПИИ

Резюме

В статье представлены данные по определению вида патогенной микрофлоры и чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Приведены результаты по наиболее часто регистрируемым патогенным микроорганизмам, выделяемым от больных маститом коров.

Установлены наиболее эффективные антибактериальные препараты при мастите коров. Выделенные от больных маститом коров микроорганизмы наиболее чувствительны к ампициллину, норфлоксацину, стрептомицину и устойчивы к неомицину, амоксициллину и цефотаксиму.

Указана необходимость определения вида патогенной микрофлоры, распространенной в хозяйствах, а также проверки чувствительности выделенных культур к различным антимикробным препаратам.

Summary

The article presents data on determining the type of pathogenic microorganisms and the sensitivity of microorganisms to drugs.

The data on the most frequently recorded pathogenic microorganisms isolated from of mastitis-affected cows are presented.

Established, the most effective drugs for mastitis. Microorganisms isolated from cows with mastitis are most sensitive to ampicillin, norfloxacin, streptomycin and are insensitive to neomycin, amoxicillin and cefotaxime.

Поступила в редакцию 19.11.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

В животноводческих хозяйствах республики мастит у коров имеет широкое распространение. Ущерб от мастита складывается за счет снижения молочной продуктивности, ухудшения качества молока, преждевременной выбраковки животных, а также затрат на ветеринарные мероприятия [8]. Из них на сокращение производства молока приходится 64,2 % потерь, несортовое молоко – 11 %, преждевременную выбраковку животных – 12,9 %, на лечение больных животных – 5 %. Большие убытки терпят молокоперерабатывающие предприятия. Примесь 5 % молока от больных маститом коров делает все сборное молоко непригодным для переработки [14, 22, 30].

Основная задача при проведении терапевтических мероприятий при мастите

направлена на устранение воспалительного процесса и восстановление молочной продуктивности [5, 6, 7, 10, 11, 19, 29]. Чем раньше будет начато лечение, тем более благоприятный исход заболевания [33].

Субклинический мастит у коров регистрируется в 4–5 раза чаще, чем клинический, и наносит существенный экономический урон [1, 7, 27, 28]. Согласно данным Международной молочной федерации, клинической формой мастита в среднем болеют 2 % коров в стаде, а субклинической – до 70 %.

По характеру проявления клинический мастит протекает с выраженными признаками болезни, субклинический – без клинических симптомов, скрыто [4, 13, 21, 24, 25, 26, 32].

Диагностика клинического мастита по изменениям внешнего вида молочной

железы и ее секрета не представляет труда [2, 3].

Для обнаружения субклинического мастита применяют экспресс-тесты с использованием химических диагностикумов, пробу отстаивания, подсчет соматических клеток в молоке и различные технические устройства [20, 23].

Диагностические мероприятия рекомендуются проводить в следующие сроки:

- контроль молочной железы на субклинический мастит – через 7 дней после отела. Из родильного отделения в основное стадо переводят только клинически здоровых животных, больных переводят в изолятор и лечат;

- первые 100 дней после отела – не реже 1 раза в 10 дней;

- период 100 дней после отела до запуска коров – не реже 1 раза в 30 дней;

- проверка коров на мастит передпуском с помощью экспресс-теста. При выявлении заболевания – лечение. Запускают животное только после полного выздоровления.

При автоматической системе доения определение соматических клеток в молоке производится при каждом доении.

Диагностику мастита у сухостойных коров проводят трехкратно:

- за 7–14 дней до запуска;

- через 14–15 дней после прекращения доения;

- за 10–14 дней до отела.

Необходимо отметить, что не реже одного раза в квартал следует проводить бактериологическое исследование молока с выделением возбудителей мастита и определение их чувствительности к применяемым препаратам. Вопросы диагностики изложены в разработанных нами «Методических указаниях по диагностике, лечению и профилактике мастита у коров» (утверждены ГУВ Минсельхозпрода Республики Беларусь 04.11.2006 г.), «Организационно-технологических требованиях при производстве молока на молочных комплексах промышленного типа» (одобрены Постановлением коллегии Министерства сельского хозяйства и продовольствия Респуб-

лики Беларусь от 4 июня 2018 г. № 16).

Несмотря на то, что проблема заболевания животных маститом известна ветеринарным специалистам уже очень давно и разработано большое количество схем и способов лечения, до сих пор не существует лекарства или схемы, которые были бы универсально применимы в любом случае возникновения этой болезни [12, 15, 31, 34].

Воспаление молочной железы возникает под воздействием неблагоприятных факторов внешней среды (механических, биологических, физических, химических) [16, 17, 35].

Патогенные микроорганизмы могут быть как непосредственной причиной мастита, так и осложнять воспалительный процесс, вызванный другими факторами, обуславливая его проявление и течение [18, 36, 37].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Определение вида патогенной микрофлоры и чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам проводили в отделе патологии размножения и ветеринарной санитарии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» согласно «Методическим указаниям по бактериологическому исследованию молока и секрета вымени сельскохозяйственных животных», утвержденным ГУВ Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь № 10-1-5/614 от 17.06.2008 г. Чувствительность к антибиотикам определяли дискодиффузионным методом, используя питательные среды и стандартизированные диски с антибиотиками. Степень чувствительности оценивали по следующей схеме: устойчивые микроорганизмы – задержки роста нет, малочувствительные – задержка роста до 15 мм, чувствительные – задержка роста 15–25 мм, высокочувствительные – задержка роста бактерий более 25 мм.

За период 2017–2019 гг. было исследовано 398 проб молока и секрета вымени

из животноводческих хозяйств Гродненской, Витебской, Минской, Брестской областей.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В секрете молочной железы при мастите у обследованных коров наиболее ча-

сто регистрировались *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Candida spp.* и др., из них порядка 70 % случаев – в различных ассоциациях.

В таблице представлены данные по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Таблица 1. – Чувствительность к антибиотикам микрофлоры, выделенной у коров при мастите

Антибиотики	Средняя зона задержки роста МО, мм
Амоксициллин	8,83±0,76
Ампициллин	8,36±0,83
Бацитрацин	1,26±0,43
Бензилпенициллин	4,98±0,83
Гентамицин	11,05±0,79
Канамицин	8,53±0,59
Неомицин	10,42±0,47
Норфлоксацин	13,75±0,55
Стрептомицин	11,44±0,65
Тетрациклин	8,61±0,59
Тилозин	5,24±0,62
Цефалексин	8,27±0,81
Цефиксим	7,32±0,59
Цефотаксим	9,05±0,57
Энрофлоксацин	16,32±0,52
Эритромицин	6,77±0,58

При анализе приведенных в таблице данных видно, что невозможно предложить универсальную схему лечения мастита для различных случаев заболевания без определения вида патогенной микрофлоры, распространенной в данном хозяйстве, а также установления чувствительности выделенных культур к различным антимикробным препаратам.

Чувствительность патогенных микроорганизмов, выделяемых из секрета вымени больных маститом коров, к антимикробным препаратам различается как по хозяйствам, так и по видам препаратов (рисунок 1). В каждом хозяйстве складыва-

ется определенный микробный фон, и распространены микроорганизмы, способные вызывать мастит, обладающие «индивидуальной» чувствительностью.

Только при устранении всех факторов, вызвавших мастит у коров, можно рассчитывать на высокую эффективность лечения.

Полученные нами данные (рисунок 2) указывают на то, что выделенные от больных маститом коров микроорганизмы наиболее устойчивы к неомицину и цефотаксиму, амоксициллину и более чувствительны к ампициллину, норфлоксацину, стрептомицину.

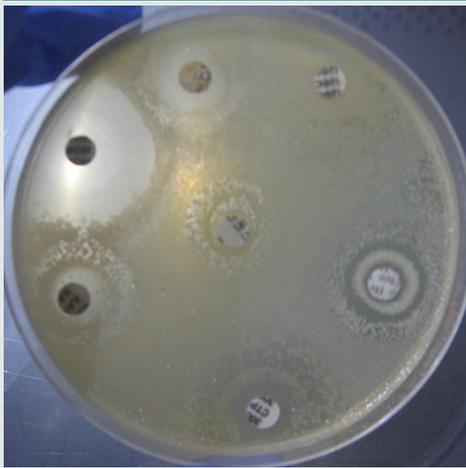


Рисунок 1. – Определение чувствительности патогенных микроорганизмов дискодиффузионным методом

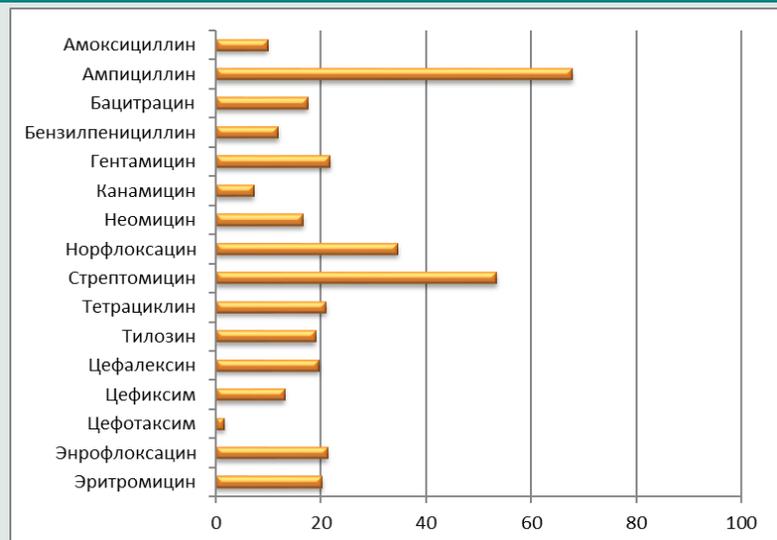


Рисунок 2. – Устойчивость микрофлоры, выделенной при мастите коров, к антибиотикам в различных хозяйствах республики, %

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При назначении схемы для лечения мастита у коров необходимо использовать эффективные ветеринарные препараты, определенные на основании исследования чувствительности микрофлоры в данном

хозяйстве. Соблюдение данных правил позволит провести лечение с максимальной эффективностью и предотвратит развитие резистентности у возбудителя мастита к антибиотикам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аленичкина, Г.Н. Иммунобиологическая защита организма коров при субклиническом мастите / Г.Н. Аленичкина // *Актуальные проблемы ветеринар. науки: тезисы докладов МВА.* – М., 1999. – С. 41–42.
2. Альтгаузен, А.Я. *Лабораторно-клинические исследования* / А.Я. Альтгаузен. – М.: Медицина, 1964. – 332 с.
3. Багманов, М.А. *Болезни репродуктивных органов и молочной железы у сельскохозяйственных животных: метод. пособие для студентов факультета ветеринарной медицины* / М.А. Багманов. – Ульяновск, 2001. – С. 47–56.
4. Батраков, А.Я. *Акушерские и гинекологические болезни коров* / А.Я. Батраков. – СПб.: Петролазер, 2003. – 240 с.
5. Безбородин, В.В. *Организация воспроизводства крупного рогатого скота и акушерско-гинекологических мероприятий в новых условиях хозяйствования: монография* / В.В. Безбородин. – Волгоград, 1997. – 217 с.
6. *Белорусское молоко высокого качества – это реально* / А.А. Богуш [и др.] // *Наше сельское хозяйство.* – 2009. – № 8. – С. 8–12.
7. Богуш, А.А. *Мастит коров и меры его профилактики* / А.А. Богуш, В.Е. Иванов, Л.М. Бородич. – Минск: Белпринт, 2009. – 160 с.
8. *Борьба с маститом коров – залог повышения сортности молока* / А.А. Богуш [и др.] // *Наше сельское хозяйство.* – № 5. – 2009. – С. 14–20.
9. Брылин, А.П. *Комплексная программа по борьбе с маститами коров* / А.П. Брылин // *Практик.* – 2002. – № 1. – С. 28–31.
10. Васильев, В.Г. *Доение коров, больных маститом* / В.Г. Васильев // *Ветеринария.* – 1998. – № 5. – С. 33–35.
11. Васильев, В.Г. *Машинное доение и мастит* / В.Г. Васильев // *Ветеринария.* – 1998. – № 12. – С. 36–37.
12. Герчиков, Л.Н. *Взаимодействие антибактериальных средств* / Л.Н. Герчиков // *Антибиотики.* – 1980. – № 6. – С. 468–474.
13. Гинзбург, А.А. *Лабораторная диагностика мастит* / А.А. Гинзбург // *Ветеринария.* – 1999. –

№ 9. – С. 74–75.

14. Демидова, Л.Д. Ветеринарно-санитарные аспекты борьбы с маститом коров и повышение санитарного качества молока: автореф. дис. ... д-ра ветеринар. наук / Л.Д. Демидова. – М., 1997. – 49 с.

15. Елинов, И.П. Современные лекарственные препараты: справочник с рецептурой / И.П. Елинов, Э.Г. Громова. – СПб., 2000. – 928 с.

16. Зверева, Г.В. Борьба с маститами коров в промышленных животноводческих комплексах / Г.В. Зверева // Актуальные проблемы ветеринарии в промышленном животноводстве. – М., 1999. – С. 15–17.

17. Ивашура, А.И. Система мероприятий по борьбе с маститами коров / А.И. Ивашура. – М.: Росагропромиздат, 1991. – 240 с.

18. Крюкова, В.В. Выделение и определение антибиотикоустойчивости патогенных стрептококков, возбудителей мастита коров / В.В. Крюкова: материалы междунар. конф., посвященной 80-летию Самарской НИВС Россельхозакадемии. – Самара, 2009. – С. 239–242.

19. Кузьминский, И.И. Профилактика мастита у коров / И.И. Кузьминский, А.А. Богуш, В.Е. Иванов // Ветеринарное дело. – 2015. – № 2. – С. 29–32.

20. Кузьминский, И.И. Экспрессный метод диагностики мастита у коров / И.И. Кузьминский, А.А. Богуш, В.Е. Иванов // Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. – 2015. – № 1. – С. 66–69.

21. Кузьмич, Р.Г. Рекомендации по проведению организационных, диагностических, профилактических и лечебных мероприятий при акушерско-гинекологической патологии у коров / Р.Г. Кузьмич [и др.]. – Витебск, 2001. – 58 с.

22. Мастит коров: учеб. пособие / Б.Л. Белкин [и др.]; под ред. проф. Б.Л. Белкина. – Орел: Изд-во ОрелГАУ, 2011. – 88 с.

23. Методические рекомендации по определению количества соматических клеток в молоке / А.А. Богуш [и др.]. – Минск, 2007. – 9 с.

24. Методические указания по диагностике, лечению и профилактике маститов у коров / Богуш А.А. [и др.]. / РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелецкого», утв. ГУВ Минсельхозпрода РБ 04.11.2006 г. – Минск, 2006. – 25 с.

25. Наставление по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров // Ветеринарный консультант. – 2001. – № 18. – С. 3–8.

26. Наставление по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров // Ветеринарный консультант. – 2001. – № 19. – С. 3–7.

27. Париков, В.А. Мастит у коров: этиология, профилактика и терапия / В.А. Париков // Ветеринария. – 1986. – № 12. – С. 7–11.

28. Полянцев, Ю.Н. Особенности этиопатогенеза, диагностики, терапии и профилактики клинических маститов сухостойных коров: автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук / Ю.Н. Поляnceв. – Воронеж, 1986. – 21 с.

29. Профилактика мастита у коров / И.И. Кузьминский [и др.] // Ветеринарное дело. – № 2. – 2015. – С. 29–33.

30. Санитарно-микробиологические исследования молока и молочных продуктов / Л.И. Смирнова [и др.]. – СПб.: Изд-во СПбГАВМ, 2009. – 54 с.

31. Слободяник, В.И. Сравнительная терапевтическая эффективность различных антимикробных препаратов при мастите у лактирующих коров / В.И. Слободяник, Е.В. Зверев // Ветеринария. Современные аспекты и перспективы: материалы Всероссийской науч.-практ. конф., Орел, 21–23 мая 2002 г. – Орел, 2002. – С. 109–110.

32. Слободяник, В.И. Мастит и акушерская патология у коров / В.И. Слободяник, А.Г. Нежданов, В.Г. Зинькевич // Ветеринария. – 1999. – № 9. – С. 36–39.

33. Студенцов, А.Г. Ветеринарное акушерство и гинекология / А.Г. Студенцов. – М., 1961. – 624 с.

34. Студенцов, А.П. Предупреждение и лечение маститов: учеб. пособие для студентов вузов по ветеринарным специальностям / А.П. Студенцов. – М., 1959. – 86 с.

35. Черепяхина, Л.А. Комплексный подход к профилактике мастита у коров / Л.А. Черепяхина // Вестник ОрелГАУ. – 2009. – № 2. – С. 44–45.

36. Bakken, G. Bovine mastitis control atrategy / G. Bakken // Irish. Veter. J. –1987. – Vol. 41. – № 3. – P. 235–241.

37. Donald Mc., J.S. Streptococcal and staphilocjccal mastitis / Mc. J.S. Donald // Veter. Clin. N. America large Anim. Pract. – 1984. – Vol. 6, № 2. – P. 269–285.

Струк М.С., старший научный сотрудник

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

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА ПРИ ВВЕДЕНИИ ПРЕПАРАТА «ИММУНОНАНОЦИНК»

Резюме

В статье затронута проблема токсичности наночастиц при попадании их в живой организм за счет приобретения ими новых свойств при переходе в наноразмерное состояние. Описан способ получения наночастиц цинка. Приведены данные результатов по изучению острой токсичности наночастиц цинка в составе иммуномодулирующего препарата «Иммунонаноцинк».

Summary

The article deals with the problem of toxicity of nanoparticles when they enter a living organism due to their acquisition of new properties during the transition to the nanoscale state. A method for producing zinc nanoparticles is described. The data on the results of the study of acute toxicity of zinc nanoparticles in the immunomodulating drug «Immunonanozinc» are presented.

Поступила в редакцию 20.11.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время наноматериалы находят широкое применение в биологии и медицине. Но, к сожалению, далеко не все свойства данных веществ в достаточной степени изучены. Известно, что некоторые наноразмерные металлы, а также их соединения обладают ярко выраженным токсическим эффектом, что требует особого внимания к проблеме изучения их взаимодействия с биологическими системами.

На сегодняшний день по номенклатуре Международного союза теоретической и прикладной химии (IUPAC) наночастицы – это объекты, размеры которых по крайней мере по одному измерению не превышают 100 нм [1]. Нанометр (нм) – одна миллиардная часть метра, или размер десяти атомов водорода, расположенных плотно.

При введении в организм таких частиц возникает опасность проявления ими цитотоксических эффектов, которые зависят от многих факторов [2]. На сегодняшний день установлено, что химические и биологические свойства наночастиц существенно отличаются от свойств исходного материала, из которого они были получены. Как правило, они проявляют уникальные

свойства, связанные с высоким соотношением их поверхности к объему, что говорит о большой эффективности их действия [3]. Так, при попадании наночастиц металлов в живой организм для их растворения требуется время. Поэтому важной особенностью наночастиц биоэлементов при введении в организм является пролонгированность их действия [4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Целью исследования явилась токсикологическая оценка воздействия иммуностимулирующего препарата «Иммунонаноцинк» на лабораторных животных.

Главная проблема в создании антисептических составов на основе цинка состоит в соблюдении баланса между величиной их активности и продолжительностью антисептического действия. Поскольку коллоидные растворы цинка предназначены для введения животным, они должны удовлетворять еще ряду требований, главными из которых являются биохимическая совместимость с компонентами крови и размер частиц в диапазоне 50–100 нм, а также устойчивость к коагуляции в плазме крови.

Управление размерами частиц достигалось варьированием концентрации восстановителя, стабилизирующих добавок, а также добавок, влияющих на вязкость раствора. В качестве стабилизаторов коллоидных частиц были использованы растворимые в воде полимеры. В результате взаимодействия с полимерами на частицах металла формировалась оболочка (так называемый структурно-механический барьер), препятствующая контакту металлических частиц друг с другом и, следовательно, их агрегации и седиментации.

В качестве стабилизатора коллоидных растворов наночастиц использовались также бромиды и иодиды натрия или калия бромид и иодид. Ионы избирательно сорбируются на поверхности частиц цинка, в результате чего частицы приобретают отрицательный потенциал. Одноименно заряженные частицы отталкиваются, что предохраняет коллоидный раствор от коагуляции и последующей седиментации.

Усовершенствована методика синтеза наночастиц, которая заключалась в очистке коллоидного раствора от побочных продуктов, для чего было опробовано центрифугирование и последующее диспергирование осадка ультразвуком в режиме кавитации. Для полной очистки от примесей операция центрифугирование – диспергирование повторялась несколько раз. В качестве дисперсионной среды использовался полиэтиленгликоль со степенью полимеризации 200 (ПЭГ 200).

Таким образом, на базе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии

им. С.Н. Вышелесского» были проведены исследования острой токсичности препарата «Иммунонаноцинк» и его действия на кожу и слизистые оболочки.

Для оценки токсичности использовали белых мышей обоего пола с живой массой 18–20 г. По принципу аналогов были сформированы группы животных по 5 голов в каждой. Препарат «Иммунонаноцинк» вводили подкожно в дозе 0,2 мл, но в различных концентрациях. Препарат растворяли в изотоническом растворе натрия хлорида. Животным контрольной группы вводили изотонический раствор натрия хлорида в таком же объеме (таблица 1). За лабораторными животными было установлено клиническое наблюдение в течение 10 дней. В период проведения опыта поддерживали условия кормления и содержания, прием воды не ограничивали. Во время наблюдения за животными учитывали их поведенческие реакции, общее состояние, двигательную активность, отношение к корму, состояние шерстного покрова и выживаемость.

По окончании острых опытов экспериментальные животные подверглись эвтаназии с последующим осмотром внутренних органов.

Препарат будет считаться выдержавшим испытание, если в течение всего периода наблюдений ни одна из подопытных мышей не погибнет. Препарат будет считаться нетоксичным, если у подопытных животных не возникнет местных воспалительных явлений, потери массы, и все мыши останутся живы.

Таблица 1. – Схема опыта по определению острой токсичности препарата на основе наночастиц цинка «Иммунонаноцинк»

Группа животных	Доза препарата, мл	Количество мышей в группе	Способ введения	Концентрация наночастиц
Опытная № 1	0,2	5	подкожно	5,0 г/л (5 мг/мл)
Опытная № 2	0,2	5	подкожно	2,5 г/л (2,5 мг/мл)
Опытная № 3	0,2	5	подкожно	1,25 г/л (1,25 мг/мл)
Опытная № 4	0,2	5	подкожно	0,63 г/л (0,63 мг/мл)
Опытная № 5	0,2	5	подкожно	0,32 г/л (0,32 мг/мл)
Контрольная	0,2	5	подкожно	изотонический раствор натрия хлорида

Объектами оценки действия препарата «Иммунонаноцинк» на кожу и слизистые оболочки были кролики весом 1,8–2,0 кг, разделенные на опытные и контрольную группы. При кожной пробе исследуемый препарат наносили в чистом виде в дозах 0,5; 1,0, 5,0 и 10,0 мг/кг на предварительно подготовленный участок кожи. Кроликам контрольной группы в качестве плацебо применяли изотонический раствор натрия хлорида в том же объеме. Тестирование реакции проводили в течение 24 часов. При этом учитывали изменение температуры кожи, наличие отека, трещин, эритемы, изъязвлений.

При глазной пробе кроликам в конъюнктивальный мешок левого глаза закапывали по 2 капли препарата «Иммунонано-

цинк», а в правый – изотонический раствор натрия хлорида в том же объеме и на протяжении 24 часов наблюдали за реакцией слизистой оболочки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Острое токсическое действие препаратов изучали по общепринятым методикам [5, 6]. На первом этапе исследований острой токсичности препарата «Иммунонаноцинк» использовали подкожный путь введения. В результате проведенных исследований установлено, что препарат «Иммунонаноцинк» в концентрации от 50 мг/кг и ниже не вызывает каких-либо нарушений в общем состоянии и поведении животных (таблица 2).

Таблица 2. – Результаты по определению острой токсичности препарата «Иммунонаноцинк»

Группа животных	Показатель	Сутки после введения препарата									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Опытная № 1	количество выживших/павших	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0
	реакция на месте инъекции	-	-	-	4	4	4	4	4	4	4
Опытная № 2	количество выживших/павших	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0
	реакция на месте инъекции	-	-	-	-	1	1	1	1	1	1
Опытная № 3	количество выживших/павших	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0
	реакция на месте инъекции	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1
Опытная № 4	количество выживших/павших	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0
	реакция на месте инъекции	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Опытная № 5	количество выживших/павших	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0
	реакция на месте инъекции	-	-	-	1	1	1	1	1	1	1
Контрольная	количество выживших/павших	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0	5/0
	реакция на месте инъекции	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Наблюдения за клиническим состоянием подопытных животных продолжали и после введения препарата, учитывали ко-

личество погибших животных и рассчитывали основные токсикологические параметры. Почти все лабораторные животные

в течение всего срока наблюдения были спокойными, активно двигались и имели хороший аппетит.

После введения наночастиц цинка в концентрации 50 мг/кг у 80 % мышей отмечалось незначительное уплотнение на месте инъекции, которое проходило через 2–3 дня.

Визуальный осмотр внутренних органов после вскрытия не выявил каких-либо патологических изменений, а их абсолют-

ная и относительная массы мало чем отличались от таковых показателей в контрольной группе.

В течение эксперимента не было выявлено достоверных изменений состояния кожи кроликов, получавших исследуемый препарат. Отсутствовали явления гиперемии, отека, изъязвления и другие изменения, что соответствовало 0 баллов по шкале оценки кожных проб [7] (таблица 3).

Таблица 3. – Оценка кожной пробы при использовании препарата «Иммунонаноцинк»

Группа животных и доза препарата	Наличие реакции					
	оценка в баллах			раздражающий эффект		
	3 ч	6 ч	24 ч	3 ч	6 ч	24 ч
Опытная № 1, 0,5 мг/кг	0	0	0	отр.	отр.	отр.
Опытная № 2, 1,0 мг/кг	0	0	0	отр.	отр.	отр.
Опытная № 3, 5,0 мг/кг	0	0	0	отр.	отр.	отр.
Опытная № 4, 10,0 мг/кг	0	0	0	отр.	отр.	отр.
Контрольная	0	0	0	отр.	отр.	отр.

Проведенная визуальная оценка состояния конъюнктивы, роговицы и век глаз животных после нанесения исследуемого вещества позволила установить, что препарат «Иммунонаноцинк» не вызывает раздражения конъюнктивы как сразу после инстилляции, так и в течение всего периода наблюдения, что соответствовало 0 баллов

по шкале оценки конъюнктивальной пробы [7] (таблица 4). Следовательно, положительные результаты проведенных исследований позволяют нам утверждать, что препарат «Иммунонаноцинк» не обладает местно-раздражающим действием при нанесении на кожные покровы и слизистые оболочки глаз.

Таблица 4. – Оценка конъюнктивальной пробы при использовании препарата «Иммунонаноцинк»

Группа животных и доза препарата	Наличие реакции					
	оценка в баллах			раздражающий эффект		
	3 ч	6 ч	24 ч	3 ч	6 ч	24 ч
Опытная № 1, 0,5 мг/кг	0	0	0	отр.	отр.	отр.
Опытная № 2, 1,0 мг/кг	0	0	0	отр.	отр.	отр.
Опытная № 3, 5,0 мг/кг	0	0	0	отр.	отр.	отр.
Опытная № 4, 10,0 мг/кг	0	0	0	отр.	отр.	отр.
Контрольная	0	0	0	отр.	отр.	отр.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Совокупность научных данных о наночастицах указывает на то, что они относятся к новому классу продукции, и характеристика их потенциальной опасности является обязательной. При разработке и создании новых лекарственных препаратов на основе наночастиц металлов вопрос токсичности и определение зон их биологического действия при введении в организм является важным и актуальным.

Проведенная токсикологическая оценка препарата «Иммунонаноцинк» при подкожном применении в максимально допустимых дозах показала, что данный

препарат не вызывает патологических изменений органов или общего состояния животных. Установлено, что препарат является малотоксичными. LD50 при подкожном введении рассчитать не удалось ввиду отсутствия гибели животных при использовании максимально допустимых объемов. Также опытным путем установлено, что исследуемый препарат не оказывает раздражающего эффекта на кожу и слизистые оболочки глаза.

Таким образом, препарат «Иммунонаноцинк» можно считать выдержавшим испытания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Наночастицы и нанотехнологии в медицине сегодня и завтра / Л.Ф. Абаева [и др.] / ГУ Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского // Альманах клинической медицины. – 2010. – № 22. – С. 10–16.
2. Букина, Ю.А. Антибактериальные свойства и механизм бактерицидного действия наночастиц и ионов серебра / Ю.А. Букина, Е.А. Сергеева // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – № 14. – С. 170–172.
3. Байтукалов, Т.А. Физико-химические особенности ранозаживляющих свойств наночастиц железа и магния в составе различных полимеров: автореф. дис. ... канд. хим. наук / Т.А. Байтукалов. – М., 2006. – 20 с.
4. Глуценко, Н.Н. Токсичность наночастиц цинка и его биологические свойства / Н.Н. Глуценко, А.В. Скальный // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2010. – № 3(21). – С. 118–121.
5. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Р.У. Хабриев; под общ. ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
6. Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии / А.Э. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – 156 с.
7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ; под ред. В.П. Фисенко. – М.: Ремедиум, 2000. – 398 с.

Вакцина ассоциированная против пастереллеза, гемофилезного полисерозита и актинобациллярной плевропневмонии свиней

«РЕСПИС-ПГА»

- Содержит бактерии *Pasteurella multocida* серовариант А (штамм КМИЭВ-В150), *Actinobacillus pleuropneumoniae* (штамм «КМИЭВ-В169»), *Haemophilus parasuis* (штамм КМИЭВ-В171), инактивированные формалином и эмульгированные в масляном адьюванте.
- Одна иммунизирующая доза вакцины составляет 1,0 см³.
- Иммунитет у свиней наступает через 14 суток после вакцинации и сохраняется в течение 12 месяцев

**ДОСТОЙНАЯ
ЗАМЕНА
ИМПОРТУ!**



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

WWW.BIEVM.BY

ОСОБЕННОСТИ МАКРОМОРФОЛОГИИ КИШЕЧНИКА АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПИЧЕСКИХ ОКРАСОВ

Резюме

В статье описаны некоторые макроморфологические особенности кишечника, касающиеся его длины, формы и топографии, американской норки в зависимости от ее генотипа.

Summary

The article describes some of the macromorphological features of the intestine regarding its length, shape and topography in the American mink, depending on its genotype.

Поступила в редакцию 18.09.2019 г.

ВВЕДЕНИЕ

Одно из центральных мест в пищеварительной системе млекопитающих занимает кишечник, что связано не только с его основными функциями расщепления и всасывания питательных веществ, но и с целым рядом побочных функций (синтез витаминов и гормоноподобных веществ, защитная, иммунная) [1, 5, 9, 13, 15]. Подобная полифункциональность органа во многом стала возможной благодаря его дифференцировке на отделы: тонкий и толстый. У большинства млекопитающих первый из них включает двенадцатиперстную, тощую и подвздошную кишки, а второй – слепую, ободочную и прямую. При этом на границу между двумя отделами, как правило, четко указывает положение слепой кишки [1, 5, 9, 13, 14, 15].

Тонкий отдел кишечника функционально связан с крупными пищеварительными железами (печенью и поджелудочной железой), протоки которых открываются в двенадцатиперстную кишку. В совокупности с наличием в этом отделе пристенных пищеварительных желез создаются все условия для наиболее интенсивных

пищеварительных процессов, морфологически выражающихся в увеличении длины тонкого отдела по отношению к толстому. У травоядных животных это обстоятельство несколько нивелируется необходимостью расщепления большого количества клетчатки, что приводит к увеличению длины толстого кишечника. Поэтому длина тонкого кишечника превышает длину толстого всего в 3,4 (лошадь) – 5,1 (буйвол) раза. При этом длина всего кишечника превосходит длину тела в 22,5–32 раза [1, 5, 9, 15].

Плотоядным животным, в отличие от травоядных, необходимо переваривать преимущественно белковую пищу, что привело к уменьшению длины кишечника, который превышает длину тела только в 3,7–5 раз. Параллельно изменяется и соотношение отделов в сторону уменьшения толстого. Например, у домашней кошки длина тонкого отдела превышает таковую толстого в 5,6 раза, а у хоря – в 10 раз [1, 5, 9, 13, 14].

Однако существует большая группа млекопитающих, включающих представителей разных отрядов, у которых произо-

шло упрощение строения кишечника за счет утраты слепой кишки. Такое явление характерно для плотоядных сумчатых, большинства насекомоядных и рукокрылых, ленивцев, соневых, некоторых китообразных (кашалот, дельфин), бегемотов, медвежьих и куных [4, 5, 9, 12, 13, 14, 15].

Среди перечисленных видов несомненный практический интерес представляет американская норка, которую разводят в условиях звероводческих хозяйств с целью получения ценного меха. Необходимость совершенствования условий содержания, кормления, а также ветеринарного обслуживания данного биологического вида обусловила и интерес к морфологии его органов. Среди последних определенное внимание было уделено и особенностям кишечника. В частности, было установлено, что данный фрагмент пищеварительной трубки у норки имеет относительно небольшую длину – 140–150 см. При этом на долю тонкого отдела приходится до 89–92,1 % общей длины кишечника, и от 77 до 93 % этого показателя составляет длина тоще-подвздошной кишки [10]. Длина же толстого отдела составляет в среднем 7–10 % общей протяженности кишечника, а длина ободочной кишки – до 80 %. В целом, по мнению Исаковой М.Б., отношение длины тонкого кишечника к длине толстого у американской норки составляет 7,7:1 [6].

Однако ввиду отсутствия слепой кишки, являющейся визуальной границей двух отделов, и примерно одинакового диаметра кишечника на всем его протяжении единого мнения в отношении размеров, формы и топографии остальных кишок нет. Так, если двенадцатиперстная кишка, имеющая характерную для хищных топографию, идентифицируется практически всеми авторами, то наличие тощей и подвздошной кишок как самостоятельных элементов в некоторых случаях ставится под сомнение.

Один из подходов к этому вопросу отражен в работах Климова А.Ф. и Халилова Ф.К., которые при определении всех элементов тонкого отдела предлагают учи-

тывать как ветвление кровеносных сосудов, так и строение слизистой оболочки [7, 11]. В частности, Халилов Ф.К. утверждает, что подвздошную кишку можно распознать по более короткой, чем у тощей, брыжейке, тем самым выделив ее условно. Однако, по мнению Михеичева В.Я., подвздошная кишка имеет брыжейку, равную по длине брыжейке тощей кишки, и отличается тем, что делает поворот, соответствующий изгибу ободочной кишки у других животных, а затем направляется каудально и впадает в ободочную кишку [8]. В более поздних работах Чопоровой Н.В. при описании кишечника американской норки подвздошная кишка как самостоятельный элемент кишечника не учитывается вообще [12].

Не менее дискуссионным вопросом является определение границ и топографии ободочной кишки. По утверждению Михеичева В.Я., этот орган не образует изгибов и следует в каудальном направлении прямолинейно вдоль позвоночного столба, а за его изгибы ошибочно принимаются повороты подвздошной кишки [8]. Другие же авторы указывают, что ободочная кишка, начинаясь на уровне 2–3-го поясничного позвонка, делает небольшой дугообразный изгиб или просто лежит поперек между почками и только после этого направляется каудально [4, 12].

Таким образом, за исключением нерешенных вопросов, касающихся границ отдельных кишок, общая анатомия данного органа американской норки на уровне вида на сегодняшний день является достаточно изученной. Однако в литературе практически отсутствуют сведения, касающиеся макроморфологических особенностей кишечника норки различных генотипов. Между тем, наши исследования еще одного органа пищеварительной системы – желудка – показали, что генотип зверя существенно влияет на морфологию данного органа [2, 3]. В связи с этим мы провели сравнительно-анатомические исследования кишечника у зверей генотипов регал, паломино, сканблэк, пастель, сапфир и сканбраун.

Таблица. – Макроморфометрические показатели кишечника американской норки разных генотипов

Показатель	Генотип	Регал (M±m)	Сканблэк (M±m)	Паломино (M±m)	Сапфир (M±m)	Браун (M±m)	Пастель (M±m)
Длина кишечника, см		159,00±5,060**	161,00±2,530**	77,83±4,500*	117,00±2,793**	110,67±1,807**	125,33±3,416**
Длина тонкого кишечника, см		143,74±1,051**	147,80±5,258**	70,82±3,456*	106,82±6,185***	100,60±4,926***	113,80±5,567***
Длина толстого кишечника, см		15,26±1,489	13,20±1,803	7,01±2,412	10,18±3,286	10,07±2,876	11,53±3,826
Длина двенадцатиперстной кишки, см		14,03±2,120	10,59±1,758	4,96±2,014	9,08±1,974	8,05±1,246	10,24±2,467
Длина тоще-подвздошной кишки, см		129,71±3,171**	137,21±2,645**	65,86±3,020*	97,74±3,176***	92,55±3,217**	103,56±2,974***
Длина ободочной кишки, см		9,69±1,345	9,32±1,647	4,21±1,147	7,13±2,046	6,97±1,945	8,53±1,534
Длина прямой кишки, см		5,57±1,974	3,88±2,001	2,80±1,743	3,05±2,314	3,10±1,276	3,00±1,831
Длина кишечника к длине тела, %		416,56±0,155*	397,53±0,234*	200,85±0,771*	297,48±0,403**	332,04±0,869*	298,40±0,571**
Длина тонкого кишечника к общей длине кишечника, %		90,40±0,208	91,80±2,078	90,99±0,768	91,30±2,214	90,90±2,726	90,80±1,630
Длина толстого кишечника к общей длине кишечника, %		9,60±0,294	8,20±0,713	9,01±0,536	8,70±1,177	9,10±1,592	9,20±1,120
Длина двенадцатиперстной кишки к общей длине кишечника, %		8,82±0,419	6,58±0,695	6,37±0,448	7,76±0,704	7,27±0,690	8,17±0,722
Длина тоще-подвздошной кишки к общей длине кишечника, %		81,58±0,623	85,22±1,045	84,62±0,671	83,54±1,137	83,63±1,780	82,63±0,871
Длина ободочной кишки к общей длине кишечника, %		6,09±0,266	5,79±0,651	5,41±0,255	6,09±0,733	6,30±1,076	6,81±0,449
Длина прямой кишки к общей длине кишечника, %		3,50±0,390	2,41±0,791	3,60±0,387	2,61±0,828	2,80±0,706	2,39±0,536

Примечания: * – достоверно по отношению к 5 генотипам, при $P \leq 0,05$; ** – достоверно по отношению к 4 генотипам, при $P \leq 0,05$; *** – достоверно по отношению к 3 генотипам, при $P \leq 0,05$; **** – достоверно по отношению к 2 генотипам, при $P \leq 0,05$; ***** – достоверно по отношению к 1 генотипу, при $P \leq 0,05$

Так, наибольшая относительная длина тонкого отдела кишечника при наименьшей относительной длине толстого характерна для норок генотипа сканблэк. У особой окраса регал наблюдается прямо противоположная картина. Им свойственен менее развитый тонкий кишечник, но более развитый толстый. Такое колебание может быть обусловлено снижением доли тоще-подвздошной кишки (в 1,04 раза) и возрастанием доли прямой кишки (в 1,45 раза) у генотипа регал по сравнению со сканблэк.

Что касается доли двенадцатиперстной кишки в общей длине кишечника, то наибольшее значение характерно для норок окраса регал, а наименьшее (в 1,34 и 1,38 раза соответственно) – для сканблэк и паломино.

В отношении длины ободочной кишки к общей длине кишечника можно сказать следующее. Своего максимального развития она достигает у норок окраса пастель, а наименьшего, при разнице 1,25 раза, – у норок паломино. Однако практически все приведенные данные по относительным величинам не имеют статистически достоверной разницы и демонстрируют приблизительное колебание характерных значений.

Из вышеприведенных данных следует, что генотип оказывает большое влияние на показатели длины кишечника, но практически не оказывает влияния на его топографию.

Двенадцатиперстная кишка располагается в правом подреберье. В нее открываются протоки печени и поджелудочной железы. Сама кишка прикрыта правой долей печени и подвешена на относительно короткой брыжейке. Свое начало она берет от пилорической части желудка в области 12–14 ребра, где образует сигмовидную извилину. Далее кишка следует в каудальном направлении, минует правую почку, делает поворот влево, разворачивается и направляется обратно в краниальном направлении к желудку, где переходит в тощую кишку. Иногда изгиб, образуемый двенадцатиперстной кишкой около почки, своей вершиной может доходить до входа в тазовую полость, но чаще выступает за нижний край почки на 1,5–2 см. Кроме того, в нем заключена поджелудочная железа и лимфоцентр брыжейки тощей кишки.

Тоще-подвздошная кишка берет начало от двенадцатиперстной и подвешена на длинной брыжейке. Она занимает большую часть брюшной полости и образует множество петель, сложенных в различные геометрические фигуры: конус с вершиной, направленной ко входу в тазовую полость, диск. Кроме того, может наблюдаться смешанная форма – диско-конус либо хаотичное расположение петель, а также сочетание фигур: в одном участке кишки имеется диск или конус, а далее следуют хаотично расположенные петли. Причем нами была замечена корреляция между формой петель и генотипом животного. Так, генотипическая частота их встречаемости следующая: сканблэк в 70 % случаев демонстрирует наличие конуса, регал – диска (65 %); паломино – хаотичное расположение петель (85 %); сканбраун, сапфир и пастель в 70 % характеризуются смешанными формами диска (сапфир, пастель) или конуса (сканбраун) с хаотичным распределением петель.

Следующая кишка – ободочная – является начальным участком толстого кишечника. Она имеет немного больший диаметр, чем предыдущий участок кишечника, что позволяет ее достаточно четко определить. Кроме этого, ободочная кишка подвешена на более короткой брыжейке, чем у тонкого кишечника. Начальный участок ободочной кишки отходит от тоще-подвздошной кишки и образует восходящее колено, которое практически незаметно. Далее в области правой почки ободочная кишка поворачивает к левой почке и принимает поперечное положение, образуя поперечное колено. Затем она направляется каудально (нисходящее колено) и следует по средней сагиттальной линии вдоль позвоночного столба до тазовой полости, где переходит в прямую кишку.

Однако степень выраженности колен у американской норки разных генотипов отличается. Так, у особой генотипа паломино поперечное колено слабо выражено, в то время как у норок регал и сканблэк оно имеет высокую степень развитости и хорошо заметно. Общим же для этих животных является наличие слабозаметного восходящего колена и хорошо развитого нисходящего.

Прямая кишка располагается в тазовой полости и имеет совсем небольшую протяженность. В месте перехода ободочной кишки в прямую может наблюдаться небольшое расширение – ампула.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное нами сравнительно-анатомическое исследование кишечника норок шести генотипов на фоне видового анатомического сходства выявило их неоднородность по показателям длины и формы. В частности, наиболее значительные отличительные особенности имеют кишечника генотипов регал, сканблэк и паломино.

Норки генотипов регал и сканблэк характеризуются относительно длинным кишечником в отличие от норок паломино. Кишечники норок других исследованных генотипов также несут определенные черты специфичности и имеют средние значения морфометрических показателей.

Исходя из полученных результатов, можно предположить, что выявленные макроморфологические особенности кишечника, обусловленные генотипами разводимых зверей, могут быть связаны с особенностями микроморфологии органа, что определяет их дальнейшее изучение.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Анатомия и физиология животных : учеб. пособие / Н.В. Зеленецкий [и др.] ; под ред. Н.В. Зеленецкого. – СПб. : Лань, 2019. – 386 с.*
2. *Волосевич, Д.П. Макроморфологические особенности желудка американской норки разных генотипов / Д.П. Волосевич, И.М. Ревякин // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» : науч.-практ. журнал. – Витебск, 2018. – Т. 54, вып. 4 – С. 161–164.*
3. *Волосевич, Д.П. Особенности микроморфологии слизистой оболочки желудка у американской норки разных генотипов / Д.П. Волосевич, И.М. Ревякин // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2019. – Вып. 1 (10). – С. 19–22.*
4. *Епачинцева, О.В. Особенности макро- и микроанатомии толстого кишечника у некоторых пушных зверей из отряда хищных / О.В. Епачинцева // Экологические аспекты функциональной морфологии пушных зверей. – Омск, 1989. – С. 38–46.*
5. *Жеденов, В.Н. Общая анатомия домашних животных / В.Н. Жеденов. – М.: Советская наука, 1958. – 358 с.*
6. *Исакова, М.Б. Анатомо-гистологическая структура кишечника американской норки генотипа STANDART (+/+) / М.Б. Исакова, О.В. Распутина // Актуальные проблемы развития АПК в работах молодых ученых Сибири: материалы XI Регионал. науч.-практ. конф. молодых ученых Сибирского федерального округа, Новосибирск, 28–30 апреля 2015 г. / Новосибирский государственный аграрный университет; редкол. : Н.В. Гаврилец [и др.]. – Новосибирск, 2015. – С. 132–136.*
7. *Климов, А.Ф. Анатомия домашних животных: учеб. пособие, 7-е изд. / А.Ф. Климов, А.И. Акаевский. – СПб.: Лань, 2003. – 1040 с.*
8. *Михеичев, В.Я. О границе отделов кишечника у некоторых млекопитающих / В.Я. Михеичев // Труды Башкирского с/х института. – 1960. – Т. IX, вып. 2. – С. 65–70.*
9. *Ромер, А. Анатомия позвоночных / А. Ромер, Т. Парсонс. – М. : Мир, 1992. – Т. 1. – 358 с.*
10. *Смелов, В.А. Питание и некоторые морфологические особенности пищеварительной системы Куных (Mustelidae) : автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.08 / В.А. Смелов; Петрозаводской гос. ун-т им. О.В. Куусинена. – Л., 1985. – 18 с.*
11. *Халилов, Ф. К сравнительной морфологии кишечника млекопитающих в связи с характером питания / Ф. Халилов // Зоологический журнал. – 1955. – Т. XXXIV, вып. 2. – С. 415–426.*
12. *Чопорова, Н.В. Морфофункциональные особенности некоторых органов пищеварения пушных зверей / Н.В. Чопорова, Т.П. Шубина // Новая наука: проблемы и перспективы. – РИЦ АМИ, 2015. – С. 11–12.*
13. *Gross intestinal morphometry and allometry in Carnivora / A. McGrosky [et al.] // European journal of wildlife research. – 2016. – Vol. 62, № 4. – P. 395–405.*
14. *Johnson-Delaney, C.A. Anatomy and physiology of the gastrointestinal system of the ferret and selected exotic carnivores / C.A. Johnson-Delaney // Proceedings (association of avian veterinarians). – 2006. – № 125. – P. 29–38.*
15. *Johnson-Delaney, C.A. Anatomy and physiology of the rabbit and rodent gastrointestinal system / C.A. Johnson-Delaney // Proceedings (association of avian veterinarians). – 2006. – № 110. – P. 9–17.*



НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ СЕМИНАР «ЗДОРОВЫЕ ЖИВОТНЫЕ – ПРИБЫЛЬНОЕ СКОТОВОДСТВО»

В РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» стало традицией проводить научно-практические семинары, конференции. Так, 11 октября 2019 г. по адресу г. Минск, ул. Сторожёвская, 15 в гостинице «Беларусь» состоялся научно-практический семинар «ЗДОРОВЫЕ ЖИВОТНЫЕ – ПРИБЫЛЬНОЕ СКОТОВОДСТВО». Организаторами семинара выступили РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», ОАО «БелВитунифарм», ОДО «Трепел-М».

В большом конференц-зале гостиницы собралось более 130 руководителей районных ветеринарных станций, лабораторий, зооветснабов, ветеринарных врачей ведущих животноводческих хозяйств страны.

Программа семинара была составлена с учётом анализа ранее проведенного анкетирования. Она включала вопросы профилактики, диагностики и терапии крупного рогатого скота. Открыли семинар директор РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» Ломако Юрий Васильевич и заместитель директора Департамента ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь Илюкевич Виктор Николаевич.

Далее вниманию гостей были представлены следующие доклады:

- «Идентификация сельскохозяйственных животных в Республике Беларусь и перспективы её развития» (Прудковский Вадим Олегович, заместитель директора Центра информационных систем в животноводстве);
- «Профилактика и коррекция нарушений витаминно-минерального обмена сельскохозяйственных животных» (Кучинский Михаил Павлович, зав. отделом токсикологии и незаразных болезней животных РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», доктор ветеринарных наук, профессор);
- «Качество и безопасность кормов и их влияние на развитие патологий конечностей» (Дубина Иван Николаевич, и.о. старшего научного сотрудника отдела токсикологии и незаразных болезней животных РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», кандидат ветеринарных наук, доцент);
- «Простые способы профилактики нарушений минерального обмена у коров при помощи специально приготовленного трепела» (Подобед Леонид Иллари-





онович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, зав. отделом кормления животных, главный научный сотрудник Института животноводства Национальной академии аграрных наук Украины);

- «Продукты на основе трепела месторождения «Стальное» Хотимского района (комплексный адсорбент микотоксинов, осушитель подстилки для животных и птицы)» (Королёв Дмитрий Анатольевич, директор ОДО «Трепел-М»);

- «Программа «Здоровое кормление» как основа повышения продуктивности и долголетия коров» (Сенько Андрей Владимирович, начальник консультационного отдела ООО «Биоком», кандидат ветеринарных наук, доцент);

- «Программа специфической профилактики пневмоэнтеритов телят» (Ломако Юрий Васильевич, директор института, зав. отделом бактериальных инфекций крупного рогатого скота РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», кандидат ветеринарных наук, доцент);

- «Проблемы предупреждения развития устойчивости микрофлоры к противомикробным препаратам» (Лысенко Александр Павлович, зав. отделом молекулярной биологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», доктор ветеринарных наук, профессор);

- «Альтернативные способы профилактики инфекционных болезней животных в условиях циркуляции антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов» (Борисовец Дмитрий Сергеевич, зав. отделом вирусных инфекций РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», кандидат ветеринарных наук);

- «Отбор проб крови, проведение биохимических исследований и пути решения потери барьерной функции организма» (Мистейко Михаил Михайлович, и.о. зав. отделом ветеринарных технологий РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», кандидат ветеринарных наук, доцент);

- «Мастит у коров и его профилактика в сухостойный период» (Лучко Иван Тадеушевич, доцент кафедры фармакологии и физиологии УО «Гродненский государственный аграрный университет», кандидат ветеринарных наук);

- «Современный точный метод ранней диагностики стельности КРС по молоку в управлении воспроизводства стада» (Тельманова Мария Олеговна, директор ООО «Анвитем»; Соколов Леонид Петрович, первый заместитель генерального директора по племенной работе РУП «Витебское племпредприятие»);

- «Основные паразитозы крупного рогатого скота в Республике Беларусь (диагностика, профилактика, лечение)» (Щемелева Наталья Юрьевна, и.о. зав. отделом паразитологии РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», кандидат ветеринарных наук).

Живой интерес вызвали вопросы кормления, сохранности молодняка, болезней копыт, профилактики и лечения маститов, эндометритов, диагностики и др.

Гости семинара получили профессиональные консультации по волнующим проблемам. Проведенное по итогам мероприятия анкетирование указало на высокий уровень организации, актуальность и доступность выбранного материала.

