

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

СЕКРЕТАРЬ:

Радюш И.С. – кандидат ветеринарных наук, доцент

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, доцент

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

Полоз С.В., Анисимова Е.И. ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ДИКИХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ОПТИМУМА И ПЕССИМУМА	3
Моложавский А.А., Бахур О.В., Каплич В.М. БЛАГОРОДНЫЙ ОЛЕНЬ В ОХОТНИЧЬИХ ХОЗЯЙСТВАХ РГОО «БЕЛОРУССКОЕ ОБЩЕСТВО ОХОТНИКОВ И РЫБОЛОВОВ»	9
Полоз С.В. ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ МОДЕЛЬНЫХ ВИДОВ ДИКИХ ЖИВОТНЫХ В СИСТЕМЕ «ПАРАЗИТ-ХОЗЯИН»	15
Ятусевич А.И., Миклашевская Е.В. ДЕРМАНИССИОЗ КУР В ПРОМЫШЛЕННОМ ПТИЦЕВОДСТВЕ	21
Воробьева И.Ю. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА «ПРАЗИТЕКС-5» ПРИ ИМАГИНАЛЬНЫХ ЦЕСТОДОЗАХ СОБАК	28
Федотов Д.Н., Кучинский М.П. ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ СТРУКТУР ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КРОВИ БЕЛОГРУДОГО ЕЖА ПОСЛЕ ГИБЕРНАЦИИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ НОВОГО ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА	33
Журов Д.О., Жуков А.И. ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА НЕФРОЗОВ ЖИВОТНЫХ	42
Казакова Е.Ф., Ган Е.А., Костюк Н.И., Бурко А.Н., Барсукова М.В. МЕТОДЫ, АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАМ НА ЖИВОТНЫХ, В НАУЧНОЙ И ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКЕ (ОБЗОР)	47
Лысенко А.П., Broxmeyer L., Власенко В.В., Кучвальский М.В., Красникова Е.Л. ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ОПУХОЛЕЙ	53
Костюк Н.И., Пинчук С.В., Василевич И.Б., Гапеева Т.А., Кабачевская Е.М., Стрельченя И.И., Ломако Ю.В., Барсукова М.В., Борисик Р.Н., Руколь В.М., Волотовский И.Д. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТЕЛОВОК КЛЕТКИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИМИ БОЛЕЗНЯМИ	70
Андруевич А.С., Красникова Е.Л., Мальчик О.В., Стрельченя И.И., Мистейко М.М. ВЫДЕЛЕНИЕ И СЕРОТИПИЗАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ АКТИНОБАЦИЛЛЯРНОЙ ПЛЕВРОПНЕВМОНИИ ОТ ПОРОСЯТ С РЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ	79
Струк М.С. ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ, ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ИММУНИТЕТА И ОБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ВИРУСНЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЯХ И ПНЕВМОЭНТЕРИТАХ ТЕЛЯТ	83
СВЕТЛОЙ ПАМЯТИ ОБЪЕДКОВА ГЕОРГИЯ АНТОНОВИЧА (К 90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ)	91

CONTENTS

Poloz S.V., Anisimova E.I. THE BUILDING OF STABILITY OF WILD ANIMALS IN THE ECOLOGICAL CONDITIONS OF OPTIMUM AND PESSIMUM	3
Molozhavsky A.A., Bahur O.V., Kaplic V.M. NOBLE DEER IN HUNTING FARMS OF RGOO «BELARUSIAN SOCIETY OF HUNTERS AND FISHERMEN»	9
Poloz S.V. ECOLOGICAL FEATURES OF FORMATION OF STABILITY OF MODEL SPECIES OF WILD ANIMALS IN THE «PARASITE-HOST» SYSTEM	15
Yatusevich A.I., Miklashevskaya E.V. DERMANYSSUS CHICKENS IN THE POULTRY INDUSTRY	21
Vorobyova I.Yu. EFFECTIVENESS OF THE «PRASITEKS-5» PRODUCT IN IMAGINAL CESTODOSIS OF DOGS	28
Fiadotou D.N., Kuchinsky M.P. HISTOLOGICAL TRANSFORMATIONS OF THE ENDOCRINE GLAND STRUCTURES AND THE BIOCHEMICAL CHANGE OF BLOOD OF THE BLACK BREAST AFTER HIBERNATION WHEN USING A NEW VETERINARY DRUG	33
Zhurov D.O., Zhukov A.I. PATHOMORPHOLOGICAL DIAGNOSTICS OF ANIMAL NEPHROSIS	42
Kazakova E.F., Gan E.A., Kostyuk N.I., Burko A.N., Barsukova M.V. METHODS ALTERNATIVE TO ANIMAL EXPERIMENTS, IN SCIENTIFIC AND PRODUCTION PRACTICE (REVIEW)	47
Lysenko A.P., Broxmeyer L., Vlasenko V.V., Kuchvalsky M.V., Krasnikova E.L. POSSIBLE ROLE OF TUBERCULOSIS INFECTION IN TUMOR DEVELOPMENT	53
Kostyuk N.I., Pinchuk S.V., Vasilevich I.B., Gapeeva T.A., Kabachevskaya E.M., Strelchenya I.I., Lomako Yu.V., Barsukova M.V., Borisik R.N., Rukol V.M., Volotovskiy I.D. USE OF MESENCHYMAL STEM CELLS OF FAT TISSUE FOR TREATING CATTLE WITH PURULENT-NECROTIC DISEASES	70
Andrusevich A.S., Krasnikova E.L., Malchik O.V., Strelchenya I.I., Misteyko M.M. ISOLATION AND SEROTYPIZATION OF THE CAUSATIVE AGENT OF ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE FROM PIGLETS WITH RESPIRATORY PATHOLOGY	79
Struk M.S. APPLICATIONS OF THE DRUG BASED ON INC NANOPARTICLES UNDER PRODUCTION CONDITIONS, ASSESSMENT OF THE STATE OF IMMUNITY AND METABOLIC PROCESSES FOR VIRAL RESPIRATORY INFECTIONS AND PNEUMOENTERITIS OF CALVES	83
THE LIGHT MEMORY OF THE UNION OF GEORGIAN ANTONOVICH (ON THE 90th ANNIVERSARY OF BIRTH)	91

Компьютерная верстка: Лукьянова И.А.

Подписано в печать 28.05.2020 г.

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

Уч.-изд. л. , усл. печ. л. 10,7 Тираж 100 экз. Заказ №

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

Республиканское унитарное предприятие «Информационно-вычислительный центр
Министерства финансов Республики Беларусь».

Свидетельства о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/161 от 27.01.2014, № 2/41 от 29.01.2014.

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

Полоз С.В., кандидат ветеринарных наук¹
Анисимова Е.И., доктор биологических наук, профессор²

¹РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству», г. Минск

²ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», г. Минск

ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ДИКИХ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ОПТИМУМА И ПЕССИМУМА

Резюме

В ходе проведенных исследований установлено, что на фоне депопуляции дикого кабана увеличивается плотность популяции благородного оленя и косули. В исходных сообществах копытных виды не соперничают, т.к. не имеют адаптивных преимуществ. В новообразованных сообществах некоторые виды способны к доминированию. Увеличение плотности популяции влияет на защитно-приспособительные реакции диких копытных. В условиях экологического оптимума и пессимума процессы формирования устойчивости диких копытных характеризуются стадийностью.

Summary

In the course of the studies it was found that against the background of wild boar depopulation, the population density of deer and roe deer increases. Species do not compete in the original communities of the ungulates because they don't have adaptive advantages. Some species are able to dominate in the newly formed communities. An increase in population density affects the protective and adaptive reactions of wild ungulates. In conditions of ecological optimum and pessimism the development of resistance of wild ungulates is characterized by phases.

Поступила в редакцию 08.04.2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

Энергетическое и пластическое обеспечение процессов адаптации реализуется через повышенное расходование питательных веществ корма, а также углеводов и жировых депо и сопровождается снижением массы тела и всех видов продуктивности. Экологический оптимум – набор условий окружающей среды, обеспечивающий максимальную биологическую продуктивность. При любом отклонении от этого оптимума начинают срабатывать механизмы ее внутривидовой регуляции. Одним из основных механизмов, способствующих установлению в популяции устойчивой стабильности, служит действие зависимых от плотности факторов, в том числе паразитов и их метаболитов [1].

Жизнестойкость популяций как форма существования вида популяции обеспечивается выживанием и воспроизведением населения вида в конкретных условиях. Эта

функция осуществляется однонаправленной адаптацией всех особей в популяции, системой закономерных взаимодействий особей, определяющей адаптивное распространение их в пространстве, поддержание устойчивых функциональных контактов и успешной репродукции.

Индикаторной системой экологического неблагополучия является иммунная система животных, которая чутко реагирует на изменения условий окружающей среды. Изучение адаптивных особенностей иммунитета диких животных представляет практический интерес в связи с эпизоотическим и, в меньшей степени, эпидемическим значением этих животных, а также их биоценологической ролью.

Каждый вид диких копытных, как и другие виды животных, имеет свои биологические особенности. Гематологические показатели позволяют оценивать экологические аспекты, индивидуальную изменчи-

вость, видовые особенности организмов, популяционные различия и внутривидовую вариабельность. Наиболее актуальным при исследовании экологии животных является изучение состава крови и анализ гемограммы. Показатели крови у диких копытных изучены недостаточно. В литературе имеются лишь единичные данные, что и послужило основанием для проведения данных исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научные исследования выполнялись в рамках реализации гранта БРФФИ и РФФИ (договор Б18Р-103).

Для сбора данных по численности и распространению диких копытных на территории Беларуси использовали литературные источники, отчеты Министерства лесного хозяйства, природных ресурсов и охраны окружающей среды, Министерства сельского хозяйства и продовольствия, а также результаты научно-исследовательской работы, проведенной в модельных стационарах. Численность охотничьих видов диких копытных в охотхозяйствах Витебской области за 2016–2018 годы подсчитывали без учета кабана (ввиду депопуляции).

Исследования биологических жидкостей, в т.ч. крови, проводили на приборной базе ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», используя компьютеризированный комплекс IDEXX (США). Показатели гуморального иммунитета определяли согласно методическим рекомендациям [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований показали, что в Беларуси обитает 6 основных видов копытных, из них 4 (лось – *Alces alces*, благородный олень – *Cervus elaphus*, европейская косуля – *Capreolus capreolus*, зубр – *Bison bonasus* (в Красной книге) – аборигенные и реинтродуцированные виды, обитающие на воле, а 2 вида (пятнистый олень – *Cervus nippon* и лань европейская – *Cervus dama*) разводятся в вольерах.

Лось – единственный представитель рода лосей и самый крупный из трех представителей семейства оленевых. На территории Беларуси обитает европейский лось, распространенный в Европе до Енисея [2]. Численность этого вида в Беларуси составляет 36,3 тыс. особей по учетным данным 2017 года.

Благородный олень был истреблен на территории Беларуси в XVIII в. Работы по его реакклиматизации начали проводиться в 50-х годах и в основном завершились к середине 80-х годов XX века [3]. По учетным данным за 2017 год численность оленя в Беларуси составляет 21,5 тыс. особей.

Косуля обитает в Беларуси повсеместно, и ее численность составляет 92,8 тыс. особей по учетным данным 2017 года.

Анализируя межгодовую динамику численности охотничьих видов диких копытных в Витебской области, установлено, что численность лося в 2016–2017 гг. в Городокском районе увеличилась с 1030 до 1150 особей (рисунки 1, 2, 3).

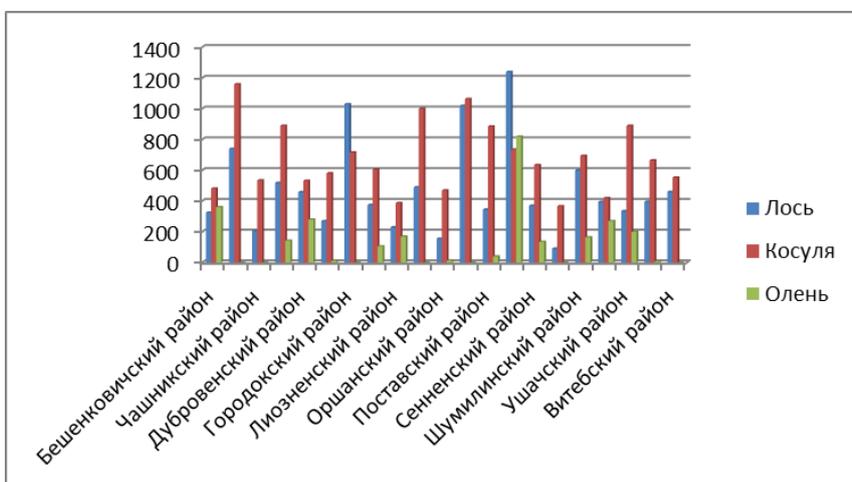


Рисунок 1. – Численность охотничьих видов диких копытных в охотхозяйствах Витебской области в 2016 году

В Браславском районе численность косули возросла с 1160 до 2420 особей за счет разведения, а в 2018 году снизилась до 1770 особей в результате охотничьего промысла (рисунки 2, 3).

В Россонском районе наблюдается увеличение численности особей лося с 1240 до 1420 особей (рисунки 2, 3) за счет его разведения.

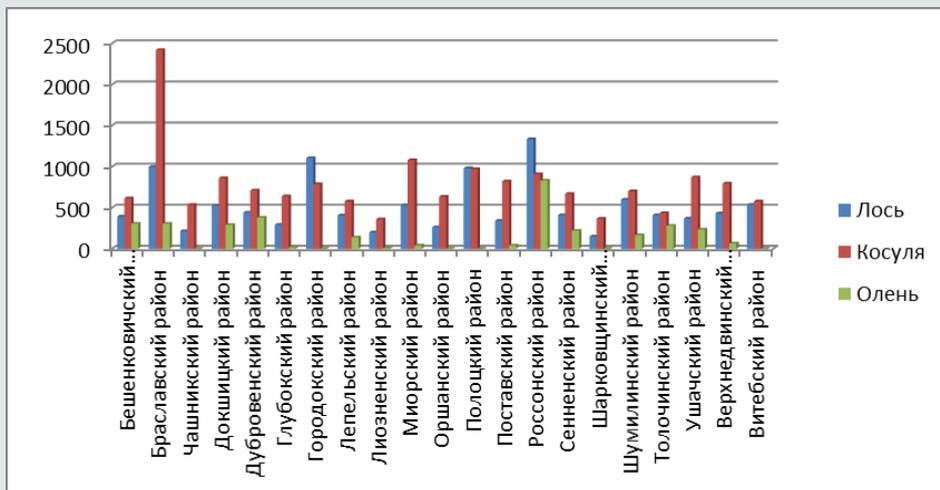


Рисунок 2. – Численность охотничьих видов диких копытных в охотхозяйствах Витебской области в 2017 году

Наибольшая численность и прирост особей оленя в Витебской области наблюдается в Россонском и Дубровенском районах. В Россонском районе численность увеличилась с 820 до 1230 особей, а в Дуб-

ровенском – с 280 до 366 особей (рисунок 3).

Планируется увеличить численность оленя в Городокском районе за счет приобретения.

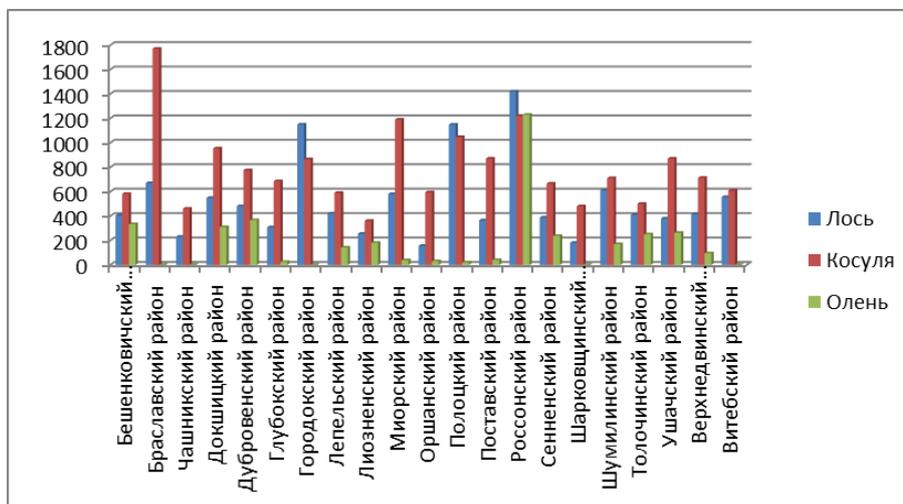


Рисунок 3. – Численность охотничьих видов диких копытных в охотхозяйствах Витебской области в 2018 году

При оценке динамики численности лося, оленя и косули в исследуемых экологических регионах Беларуси было установлено, что численность всех видов охотничьих копытных животных в последние годы стабильно растет. Плотность популяций

в большинстве случаев также увеличивается, что ведет к возникновению противоречий между нарастающим уровнем эксплуатационной нагрузки и генетически обусловленными компенсаторно-приспособительными возможностями организма.

При помощи рисунка 4 можно определить степень благоприятности среды обитания для жизнедеятельности диких животных [4]. Разные виды имеют различные амплитуды распределения по градиентам факторов среды (рисунок 5).



Рисунок 4. – Схема распределения вида на градиенте среды по Шилову (1998)

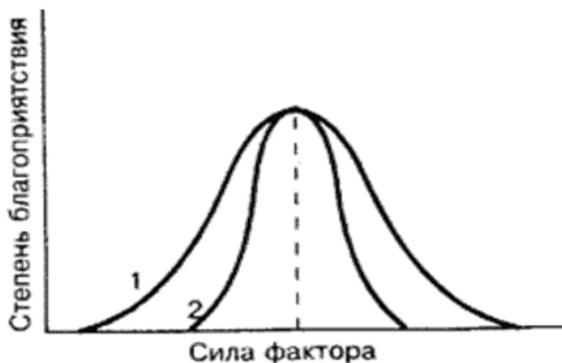


Рисунок 5. – Схема распределения по градиентам факторов среды

В условиях оптимума и пессимума начальная стадия, развивающаяся в ответ на действие экологического фактора, характеризуется системным дефицитом ресинтеза макроэргов, катаболической модификацией углеводного, липидного, белкового обменов, изменениями клеточного состава крови, угнетением общей (таблица) и иммунной сопротивляемости организма.

В условиях оптимума действие экологического фактора не является истощающим и адекватно функциональным возможностям организма. Происходит формирование долговременной адаптации.

В этот период отмечается прогрессиру-

ющее нарастание устойчивости к действующему и ряду других факторов, повышению общей и иммунной сопротивляемости, преобладание анаболических реакций над катаболическими [6].

В условиях пессимума развивается состояние неудовлетворительной адаптации либо срыва адаптации, включающее в себя все многообразие проявлений начальных форм различных патологий. Системные декомпенсаторные явления, характеризующиеся глубоким угнетением общей и иммунологической сопротивляемости организма, нарушением функции сердечно-сосудистой, репродуктивной, пищеварительной систем, расстройством обмена веществ, в конечном итоге определяют развитие нозологически дифференцируемой патологии животных.

В условиях пессимума происходит снижение бактерицидной активности сыворотки крови на 22 % (в условиях оптимума – на $68,44 \pm 2,33$ % ($p < 0,05$)). Активность лизоцима в сыворотке крови отражает уровень обмена веществ и естественной резистентности у животных, в силу чего отмечаются динамические изменения содержания фермента в процессе адаптации организма к среде обитания. В условиях пессимума данный показатель снижается на 20 % и составляет $23,84 \pm 0,23$ % (в условиях оптимума – $33,56 \pm 0,43$ % ($p < 0,05$)).

Продуцентами бета-лизинов являются тромбоциты. Активность бета-лизинов в условиях пессимума составила $15,2 \pm 3,29$ % ($p < 0,05$), что в 1,76 раза ниже, чем в условиях оптимума.

Влияние различных факторов внешней среды по-разному сказывается на активности комплемента. Уровень комплемента в условиях пессимума был на 18,8 % ниже, чем у животных в условиях оптимума, и составил $23,6 \pm 0,13$ %.

Защитная функция крови осуществляется иммунокомпетентными клетками лимфоцитами, способными к фагоцитозу. Сыворотка крови диких копытных в условиях оптимума характеризуется их высоким содержанием, что свидетельствует о процессе фенотипической адаптации их организма.

Таблица. – Показатели гемограммы оленя благородного

Показатель	Английское название	Русское название	Единицы измерения	Условия оптимума	Условия пессимума
Эритроцитарное звено гемограммы					
HGB	<i>haemoglobin</i>	гемоглобин	г/л	128±0,9	110±0,88
RBC	<i>red blood cells</i>	эритроциты	х 10 ¹² /л	9,99±0,74	5,77±0,09
MCV	<i>mean cell volume</i>	средний объем эритроцита	фемтолитр	60,3±0,43	43,2±0,4
MCH*	<i>mean concentration of haemoglobin</i>	среднее содержание гемоглобина в одном эритроците	пикограмм	25,2±0,12	23,4±0,2
MCHC	<i>mean concentration of haemoglobin cells</i>	среднее содержание гемоглобина во всех эритроцитах	г/л	498±0,97	496±0,84
RDW	<i>red blood cells distribution width</i>	ширина распределения эритроцитов по объему	%	18,4±0,03	18,2±0,04
HCT	<i>haematocrit</i>	гематокрит	%	44±0,09	35±0,07
Лейкоцитарное звено гемограммы					
WBC	<i>white blood cells</i>	лейкоциты	х10 ⁹ /л	5,9±0,02	5,4±0,04
Neu	<i>Neutrophils</i>	нейтрофилы (миелоциты, метамиелоциты, палочкоядерные, сегментоядерные)	%	2,2±0,24	3,3±0,01
EOS	<i>Eosinophyles</i>	эозинофилы	%	9,2±1,61	19,6±0,04
BAS	<i>Basophiles</i>	базофилы	%	0,1±0,1	0,3±0,015
LYM	<i>Lymphocytes</i>	лимфоциты	х10 ⁹ /л %	5,3±0,01	1,2±0,21
MON	<i>Monocytes</i>	моноциты	х10 ⁹ /л %	0,1±0,05	0,9±0,02
GPA	<i>Granulocytes</i>	гранулоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы)	х10 ⁹ /л %	2,5±0,04	8,2±0,47
Тромбоцитарное звено гемограммы					
PLT	<i>platelets</i>	тромбоциты	х10 ⁹ /л	460±0,98	730±0,42
MPV	<i>mean platelet volume</i>	средний объем тромбоцита	фемтолитр	6,1±0,03	6,2±0,04
PDW	<i>platelets distribution width</i>	ширина распределения тромбоцитов по объему	%	38±0,04	56±0,1
PCT		тромбокрит	%	0,13±0,04	0,09±0,06

Формирование гуморального иммунитета, определяющего устойчивость диких копытных, в условиях оптимума и пессимума характеризуется тремя стадиями. Первая стадия связана с мобилизацией ресурсов организма млекопитающих в процессе перестроений определенной направленности с целью стимуляции механизмов адаптации к внешним изменениям. Вторую стадию отличает устойчивая долговременная адаптация, выражающаяся в наличии необходимого резерва для обеспечения нового уровня функционирования организма млекопитающих, стабильности функциональных структур, тесной взаимосвязи регуляторных и исполнительных органов. Две эти стадии характерны и для условий экологического оптимума, и для условий экологического пессимума. В условиях экологического пессимума третья стадия связана с нарушением процессов функционального и структурного равновесия и подавлением гуморального иммунитета. Она характеризуется сильной степенью угнете-

ния и сопровождается иммунодепрессивным эффектом со снижением резистентности к изменяющимся факторам окружающей среды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В связи с депопуляцией кабана увеличивается плотность популяций благородного оленя и косули, особенно в общих местах обитания, т.е. можно говорить о некоторой последовательности в смене доминантов сообществ. В сообществах копытных, которые могут считаться исходными, виды не соперничают, т.к. не имеют ни адаптивных преимуществ, ни существенных кормовых льгот. В новообразованных сообществах некоторые виды способны к доминированию и даже вытесняют остальных копытных, используя свои адаптивные преимущества сильнее, чем льготы, предоставляемые растительностью. Формирование устойчивости диких копытных в условиях оптимума и пессимума характеризуется стадийностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галковская, Г. А. Популяционная экология / Г. А. Галковская. – Минск : Издательство Гревцова, 2009. – 232 с.
2. Дунин, В. Ф. Лось в Беларуси / В. Ф. Дунин, П. Г. Козло. – Минск : Навука і тэхніка, 1992. – 208 с.
3. Козло, П. Г. Комплекс биотехнических мероприятий для оленя благородного (в охотничьих хозяйствах Белоруссии): науч.-метод. рекомендации / П. Г. Козло, В. В. Шакур, А. Н. Буневич. – Минск, 2007. – 27 с.
4. Миркин, Б. М. Основы общей экологии / Б. М. Миркин, Л. Г. Наумова. – М., 2003. – 239 с.
5. Пляшенко, С. И. Определение естественной резистентности организма сельскохозяйственных животных: метод. рекомендации / С. И. Пляшенко, Г. К. Волков, В. Т. Сидоров. – Минск, 1985. – 33 с.
6. Экспресс-биотест. Биологический мониторинг экологических систем: метод. пособие / В. С. Бузлама [и др.]. – Воронеж, 1997. – 11 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

Моложавский А.А., кандидат биологических наук¹
Бахур О.В., кандидат биологических наук, доцент²
Каплич В.М., доктор биологических наук, профессор²

¹Республиканское государственное общественное объединение «Белорусское общество охотников и рыболовов», г. Минск

²УО «Белорусский государственный технологический университет», г. Минск

БЛАГОРОДНЫЙ ОЛЕНЬ В ОХОТНИЧЬИХ ХОЗЯЙСТВАХ РГОО «БЕЛОРУССКОЕ ОБЩЕСТВО ОХОТНИКОВ И РЫБОЛОВОВ»

Резюме

В охотничьих хозяйствах Белорусского общества охотников и рыболовов с 2014 года проводятся работы по расселению оленя благородного. Благодаря реализации этой инициативы, удалось значительно повысить численность вида, во многих хозяйствах сформировались жизнеспособные популяции. Успешность этого процесса во многом определяет оценка эпизоотической ситуации по паразитозам, а также проведение профилактических мероприятий с использованием антигельминтных препаратов широкого спектра действия с иммуностимулирующим действием.

Summary

Dissemination of red deer has been carried out in the game farms of the Belarusian Society of Hunters and Fishers Since 2014. It was possible to significantly increase the animals number of this species thanks to this initiative. Viable populations of red deer have formed in many game farms. The success of this process is largely determined by the assessment of the epizootic situation of parasitoses, as well as the implementation of preventive measures using anthelmintic drugs with a wide spectrum of action with an immunostimulating effect.

Поступила в редакцию 11.03.2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

Со второй половины XIX в. благородный олень постепенно становится одним из самых востребованных видов охотничьих животных сначала на территории, прилегающей к Беловежской пуще, а с конца XX в. и особенно в начале XXI в. – уже во всех областях страны. Его значение как охотничьего вида возросло в результате распространения АЧС и депопуляции дикого кабана, который играл ключевую роль в экономике большинства охотничьих хозяйств. Внимание пользователей охотничьих угодий к благородному оленю обусловлено также интересом иностранных охотников к трофейным животным этого вида, что открывает новые возможности для охотничьих хозяйств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ современного состояния популяции благородного оленя в хозяйствах

Республиканского государственного общественного объединения «Белорусское общество охотников и рыболовов» (далее – РГОО «БООР») базировался на материалах по численности животных этого вида, закупке и выпуску их в угодья за последние шесть лет. Анализ структуры группировок животных, их пространственного распределения осуществлялся на основе фактических данных охотничьих хозяйств, в том числе в разрезе административных областей. Для изучения гельминтов и простейших благородного оленя использованы общепринятые в гельминтологии и протозоологии методы [1, 2, 5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Республиканское государственное общественное объединение «Белорусское общество охотников и рыболовов» является наиболее крупным арендатором охотничьих угодий в Республике Беларусь:

109 охотничьими хозяйствами арендовано около 11 млн га угодий, что составляет 64 % от общей площади угодий, переданных в аренду. Охотничьи хозяйства общества расположены на территории 107 административных районов республики и охватывают 91 % их общего количества.

Наиболее значимыми видами для охотничьих хозяйств общества, как и в целом для охотничьего хозяйства республики, являются лось, косуля и благородный олень. В угодьях охотничьих хозяйств РГОО «БООР» обитает в настоящее время 20,8 тыс. особей лося, 60,8 тыс. особей косули и 8,1 тыс. особей оленя благородного. И если плотность населения лося и косули в охотничьих угодьях РГОО «БООР» и по Республике Беларусь в целом схожи, то плотность населения благородного оленя в хозяйствах общества (2,1 особей на тыс. га) ниже, чем в целом по республике (3,5 особей на тыс. га).

Сложившаяся ситуация во многом является следствием процессов, происшедших в охотничьем хозяйстве страны в конце XX в., когда осуществлялась передача наиболее продуктивных охотничьих угодий, арендуемых в то время хозяйствами РГОО «БООР», другим субъектам хозяйствования. Например, переданы другим

арендаторам хозяйства с наибольшей в то время плотностью популяции оленя благородного, например Бабиновичское, Красносельское, Пружанское и др.

В исследованиях Козореза А.И. [3, 4] отмечается, что плотность населения благородного оленя на территории республики характеризуется крайней неравномерностью. Наибольшей плотностью и численностью отличаются беловежско-пружанская, налибокская, озерская, негорельская и краснорская локальные популяции. В то же время часть территории страны остается неосвоенной этим видом, значительная часть локальных популяций характеризуется низкой плотностью населения (менее 10 особей на тыс. га), которая, по мнению автора, недостаточна для нормального функционирования элементарной популяции вида.

Охотничьи угодья Республики Беларусь отличаются достаточно благоприятными кормовыми и защитными качествами для расселения благородного оленя, о чем свидетельствует фактическая численность этого вида в административных областях страны (рисунок 1). Наиболее благоприятными для него являются угодья южной части Беларуси, особенно хозяйств Гомельской области.

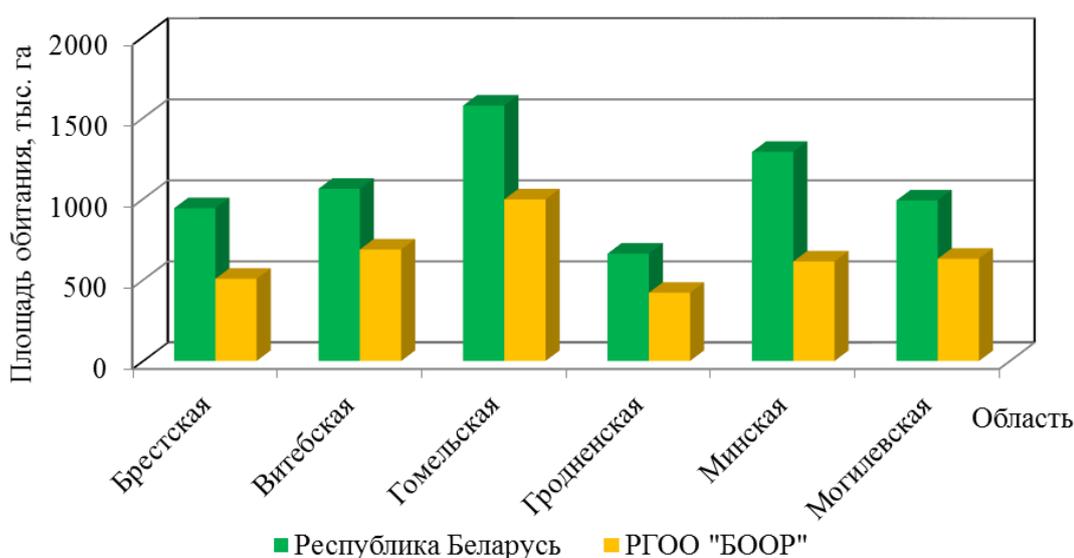


Рисунок 1. – Распределение площади обитания благородного оленя по административным областям Республики Беларусь (тыс. га)

В исследованиях ряда авторов [6, 7] отмечается потенциальная возможность конкуренции за пищевые ресурсы благородного оленя с лосем и косулей. Вместе с тем, возрастание напряженности конкурентных взаимоотношений наблюдается при достижении высокой плотности населения всеми видами, что неактуально для охотничьих хозяйств РГОО «БООР».

В 2014 и 2015 гг. производилась закупка благородных оленей по инициативе и за счет собственных средств РГОО «БООР», а с 2016 г. животные закупались в рамках выполнения Государственной программы «Белорусский лес» [8]. Всего было закуплено 134 самца оленя благородного в возрасте 3–5 лет, 939 самок в возрасте 2–3 лет и 868 сеголетов, которые были выпущены в угодьях 40 охотничьих хозяйств.

На базе Калинковичской районной организационной структуры РГОО «БООР»

была создана ферма по разведению благородного оленя, из которой с 2017 г. также проводились поставки животных в охотхозяйства республики.

Вселение оленя в охотничьи угодья осуществлялось группами по 30–70 особей после передержки в специализированном вольере. Наибольшее количество животных было вселено в хозяйства Гомельской области, что объясняется фактически полным отсутствием этого вида ранее (таблица). Значительное количество животных было вселено в угодья хозяйств РГОО «БООР» Минской, Могилевской и Витебской областей. В Гродненской и Брестской областях эти работы также проводились, но в несколько меньших объемах, что связано с процессами естественного расселения благородного оленя из региона Беловежской пуши (рисунок 2).

Таблица. – Численность приобретенных особей благородного оленя в областных организационных структурах РГОО «БООР» (2014–2019 гг.)

Областная организационная структура	Всего	Из них		
		самцы	самки	сеголетки
Брестская	194	10	87	97
Витебская	292	20	141	131
Гомельская	601	43	314	244
Гродненская	183	12	89	82
Минская	424	29	188	207
Могилевская	247	20	120	107
Всего	1941	134	939	868

Применение комплексного подхода, включающего организацию территории, охрану охотничьих угодий, проведение биотехнических мероприятий и, конечно, расселение благородного оленя, позволило с 2013 по 2019 гг. увеличить поголовье животных этого вида в хозяйствах РГОО «БООР» в 3,9 раза, что выше, чем в среднем по республике, в 1,85 раза.

Для формирования в будущем устойчивой элементарной популяции благородного оленя большое значение имеют хозяйства, в которых численность этого вида превысила 100 особей. В 2013 г., на момент принятия решения об увеличении поголовья этого вида в хозяйствах РГОО «БООР», таких хозяйств было 4, а в 2019 г. их количество возросло до 37 (рисунок 3).

За период выполнения работ по расселению благородного оленя значительно сократилось количество хозяйств (с 64 до 23), на территории которых благородный олень

не встречался как биологический вид. В то же время плотность популяций оленя на территории охотничьих угодий РГОО «БООР» в целом не высока (рисунок 4).

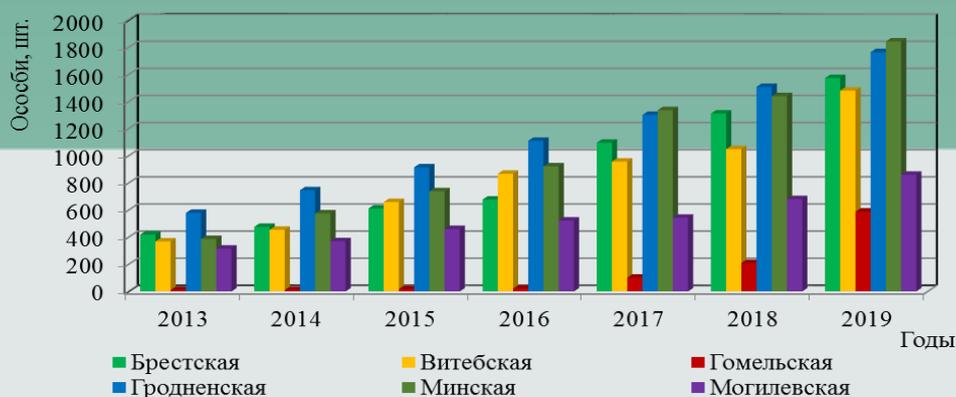


Рисунок 2. – Динамика численности благородного оленя в хозяйствах РГОО «БООР» в разрезе областей

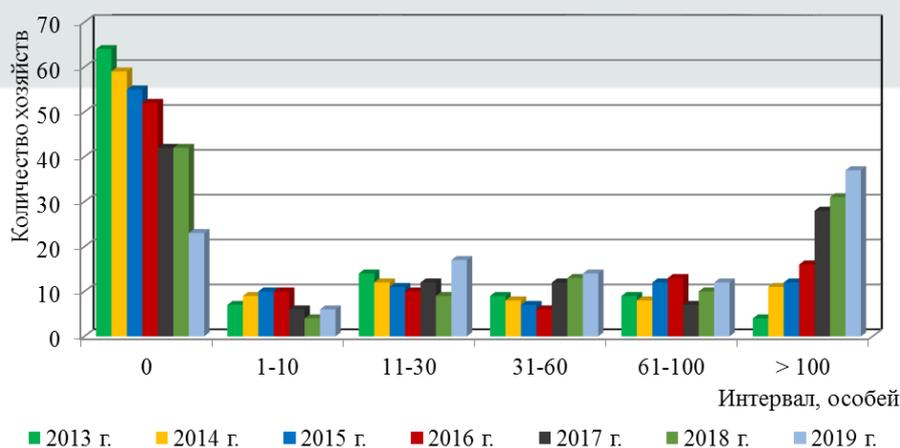


Рисунок 3. – Распределение хозяйств РГОО «БООР» по интервалам численности благородного оленя (2013–2019 гг.)

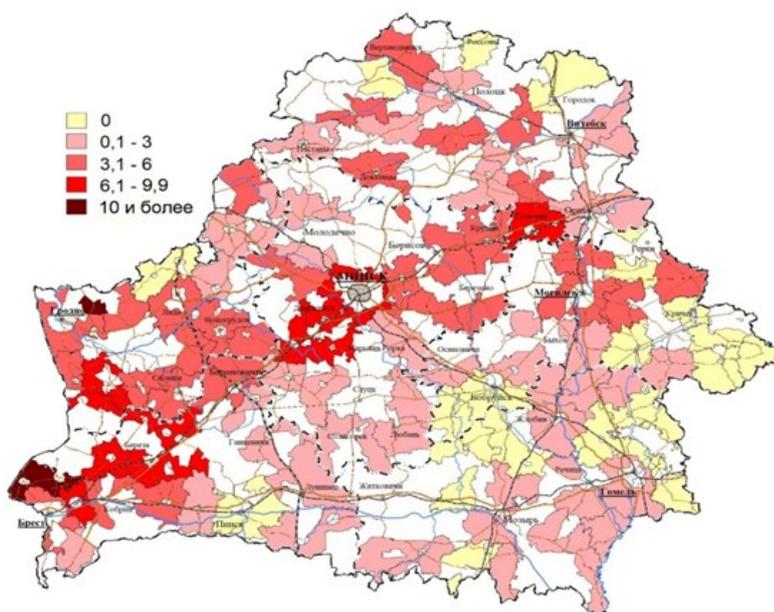


Рисунок 4. – Плотность населения благородного оленя в хозяйствах РГОО «БООР» по состоянию на 01.05.2019 г. (особей на тыс. га)

Успешность процессов расселения благородного оленя во многом зависит от иммунного статуса особей и наличия в их организме паразитов, особенно при вольерном содержании. Гельминтозы у диких животных протекают тяжело, при этом заметно снижается их продуктивность, нередко отмечаются случаи падежа. У зараженных животных снижается резистентность к возбудителям других заболеваний. Особенно страдает от гельминтозных заболеваний молодняк. Взрослые дикие копытные хотя и заражены в меньшей степени, чем молодняк, являются источником распространения инвазии. В результате проведенных исследований выявлена зараженность благородного оленя гельминтами 8 видов (*Parafasciolops fasciolaemorpha* (Ejsmont, 1932), *Paramphistomum ichikawai* (Fukui, 1929), *Trichocephalus skrjabini* (Baskakow, 1924), *Strongiloides papillosus* (Weld, 1856), *Hemonchus contortus* (Rud., 1803; Cobbold, 1898), *Dictyocaulus eckerti* (Skrjabin, 1931), *Mecistocirus digitatus* (Linstow, 1906; Rilletet Henry, 1912), *Nematodirus filicolis* (Rudolphi, 1802), относящимися к двум классам (*Trematoda*, *Nematoda*), и 1 видом эймерий из класса *Sporozoa*. Богат в видовом отношении в гельминтоценозе класс нематод – 6 видов.

Наиболее широко распространенными гельминтозами благородного оленя являются мецистоцирроз и стронгилоидоз, зараженность возбудителем которых достигает 76,2 % и 71,3 % соответственно. Из других гельминтозов высока экстенсивность трихоцефалезной и диктиокаулезной инвазий – 23,2 % и 20,8 % соответственно. Реже встречались парафасциолопсисы (ИЭ 6,9 %, ИИ 1–2 экз.), нематоды (ЭИ 4,9 %, ИИ 1–2 экз.) и парамфистоматиды (ИЭ 3,0 %, ИИ 1–2 экз.). На исследуемой территории у благородного оленя доминируют желудочно-кишечные гельминты, реже встречаются простейшие. Экстенсивность инвазии благородного оленя в охотугодьях при вольерном содержании составляет от 37,4 % до 66,1 %, при свободном обитании – от 2,3 % до 28 %.

Таким образом, на основании проведенных паразитологических исследований благородного оленя из различных биотопов установлено, что из гельминтов доминируют желудочно-кишечные нематоды *Trichocephalus skrjabini*, *Strongiloides papillosus* и *Mecistocirus digitatus*, реже встречаются простейшие.

В результате анализа гельминтоцидных свойств современных антгельминтиков для дегельминтизации оленей на подкормочных площадках выбран новый отечественный препарат «Фенбет-20» – комплексный антгельминтик широкого спектра действия, обладающий иммуномодулирующим действием в сравнении с 20%-ным тетрализолом гранулятом и тимбендазолом (22%-ный гранулят фенбендазола). При испытании на опытных площадках выбранных препаратов установлено, что фенбендазол в лекарственной форме отечественного препарата тимбендазол в дозе 50 мг/кг, а также новый препарат «Фенбет-20» в дозе 50 мг/кг массы животного при скормливания с комбикормовой смесью однократно групповым способом при стронгилоидозе, мецистоциррозе, нематодозе показал терапевтическую эффективность 97 %, а при гемонхозе – 95,5 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проделанная работа по расселению благородного оленя позволила за период с 2013 по 2019 гг. в 3,3 раза увеличить количество хозяйств РГОО «БООР», в которых возможно проведение охоты на этот ценный вид трофейных животных. При этом численность запланированных к изъятию особей вида выросла за указанный период с 84 до 1050 особей, что подчеркивает его возрастающую роль в экономике охотничьих хозяйств РГОО «БООР», поскольку охотхозяйственная деятельность для них является основной. Среди различных мероприятий важное значение имеет дегельминтизация благородного оленя против наиболее распространенных гельминтозов с помощью антгельминтиков «Фенбет-20» и 22%-ного тимбендазола в дозе 50 мг/кг массы животного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Практикум по диагностике инвазионных болезней животных / М. Ш. Акбаев [и др.]. – М., 1994. – 255 с.
2. Ивашкин, В. М. Методы сбора и изучения гельминтов наземных млекопитающих / В. М. Ивашкин, В. Л. Контримавичус, Н. С. Назарова. – М. : Наука, 1971. – 123 с.
3. Козорез, А. И. Ресурсы оленьих Беларуси / А. И. Козорез // Лесное и охотничье хозяйство. – 2014. – № 11. – С. 42–47.
4. Козорез, А. И. Разработка плана действий по расселению и реконструкции численности оленя благородного (*Cervuselaphus*) в охотничьих угодьях РГОО «БООР»: отчет о НИР / А. И. Козорез, Д. А. Подошвелев, Н. В. Терешкина; № госрегистрации 20161909. – Минск : БГТУ, 2016. – 75 с.
5. Котельников, Г. А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды: справочник / Г. А. Котельников. – М. : Колос, 1984. – 208 с.
6. Смоктунович, Е. А. Некоторые факторы, определяющие динамику численности косули Беловежской пуцы / Е. А. Смоктунович // Заповедники Белоруссии. Исследования. – Минск : Ураджай, 1980. – Вып. 4. – С. 139–146.
7. Шостак, С. В. Численные соотношения европейского благородного оленя с другими копытными / С. В. Шостак // Заповедники Белоруссии. Исследования. – Минск : Ураджай, 1978. – Вып. 2. – С. 130–139.
8. Об утверждении Государственной программы «Белорусский лес» на 2016–2020 годы: Постановление Совета Министров Республики Беларусь от 18.03.2016 № 215 / Национальный реестр правовых актов Республики Беларусь. – 2016. – № 5/41839.

вакцина инактивированная эмульгированная для профилактики пастереллеза крупного рогатого скота

«ПНЕВМОБАКТ-Л»

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



www.BIEVM.BY



Полоз С.В., кандидат ветеринарных наук

РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству», г. Минск

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ МОДЕЛЬНЫХ ВИДОВ ДИКИХ ЖИВОТНЫХ В СИСТЕМЕ «ПАРАЗИТ-ХОЗЯИН»

Резюме

В ходе проведенных исследований установлено, что количество регистрируемых видов гельминтов у диких копытных различается по сезонам года: в летне-осенний период зарегистрировано 12 видов гельминтов, в зимне-весенний – 16 видов. Гельминты как биотический фактор оказывают значительное влияние на устойчивость организма диких копытных. Установление показателей резистентности животных позволяет определить степень воздействия неблагоприятных биотических факторов среды обитания (гельминтов) и оценить устойчивость как отдельных организмов, так и популяции в целом.

Summary

Studies have found that the number of reported species of helminthes in wild ungulates varies at different seasons of the year: during the summer-autumn season – 12 species of helminthes, the winter-spring – 16 species. Helminthes, as a biotic factor, has a strong impact on the organisms' resistance of wild ungulates. The finding of resistance indicators of animals allows determining the degree of unfavorable biotic environmental factors (helminthes) exposure and to assess the resistance of both individual organisms and the population as a whole.

Поступила в редакцию 23.04.2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение динамических процессов устойчивости и механизмов экологических адаптаций популяций, обитающих в системе «паразит-хозяин», является одной из важнейших фундаментальных научных проблем. Понимание явлений, происходящих в живых системах, – необходимое условие их сохранения и возможного неистощимого использования природных ресурсов. Воздействие экологических факторов значительно меняется при движении от области благоприятного воздействия к границе, где интенсивность фактора приводит к угнетению. Преобразование местообитаний в результате воздействия экологических факторов приводит к существенным перестройкам экосистем, в т.ч. изменению биологического разнообразия видов. В результате вселения и закрепления новых видов диких копытных могут происходить изменения видового состава гельминтов и их влияния на устойчивость организма хозяина. В настоящее время сведения о характе-

ре влияния гельминтов на формирование устойчивости диких копытных в зависимости от экологических факторов и биологических особенностей вызывают необходимость проведения исследований, позволяющих получить актуальные данные.

В прикладном значении решение обозначенных выше вопросов позволит оценить влияние гельминтов на устойчивость организма диких копытных, сделать прогноз дальнейших изменений их популяций, разработать рекомендации для минимизации распространения гельминтов и оздоровления диких копытных с целью сохранения биоразнообразия и рационального использования их ресурсов.

Цель наших исследований – определить приоритетные виды гельминтов диких копытных в зависимости от сезона года, установить влияние гельминтов как биотического фактора на показатели антиоксидантной системы и резистентности, определяющие устойчивость диких копытных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экологические факторы по-разному влияют на организм диких копытных. Наибольшее воздействие оказывают биотические факторы, а именно гельминты и климатические условия, в том числе сезоны года. Адаптация к различным экологическим факторам отражается на функционировании ряда физиологических процессов, влияющих на некоторые физиологические маркеры, такие как гематологические и биохимические показатели крови, активность супероксиддисмутазы (СОД) [11], активность каталазы [12], содержание глутатиона [4], диеновые конъюгаты (ДК), содержание малонового диальдегида (МДА) [2] – показатели антиоксидантной системы (АОС), ЛАСК, БАСК, ФАНК, бета-лизины – показатели неспецифического иммунитета [7].

Исследование проб крови проводилось на анализаторах системы IDEXX (США). Биохимические показатели крови диких животных определяли на анализаторе Catalyst One, гематологические показатели – с помощью анализатора крови Laser Cyte.

Отбор материала проводили в охотхозяйствах Республики Беларусь, лабораторные исследования – на базе ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам».

Научные исследования выполнялись в рамках реализации гранта БРФФИ и РФФИ (договор Б18Р-103).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В современном интенсивно развивающемся мире участки естественных лесов быстро уменьшаются, что вынуждает ди-

ких копытных интегрироваться в изменённую человеком среду обитания, которая представляет собой новые и часто быстро меняющиеся места обитания [8]. Лесные экосистемы и составляющие их популяции животных становятся все более фрагментированными вследствие увеличения численности населения, урбанизации, расширения транспортной инфраструктуры, трансформации среды обитания и интенсификации сельского и лесного хозяйств [10].

Одним из факторов, определяющих популяционные параметры крупных копытных, является современная крупномасштабная практика использования лесных ресурсов, которая создаёт новые модели ландшафта и изменяет растительный состав участков. На этих участках одни виды могут получать преимущество и увеличивать численность, другие – сокращаться. Исходя из общих представлений, прогнозируется, что численность видов будет уменьшаться с уменьшением площади и увеличением изоляции районов в соответствии с теорией островной биогеографии [9]. Однако трансформация самих местообитаний (например, смена одних типов леса другими) может отражаться на численности некоторых видов копытных и формировании у них устойчивости к гельминтам.

Депопуляция кабана в Беларуси привела к тому, что во многих охотничьих хозяйствах растёт численность благородного оленя, что ведёт к увеличению плотности его популяции (рисунок 1).

Кроме того, происходит рост плотности населения зубра европейского (рисунок 2), что неизбежно отражается на гельминтофауне.

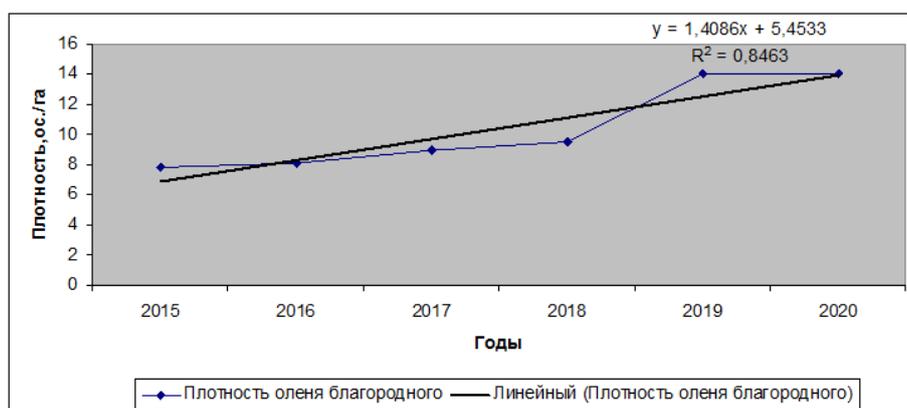


Рисунок 1. –
Плотность популяции оленя благородного в ГОЛХУ «Осиповичский опытный лесхоз»

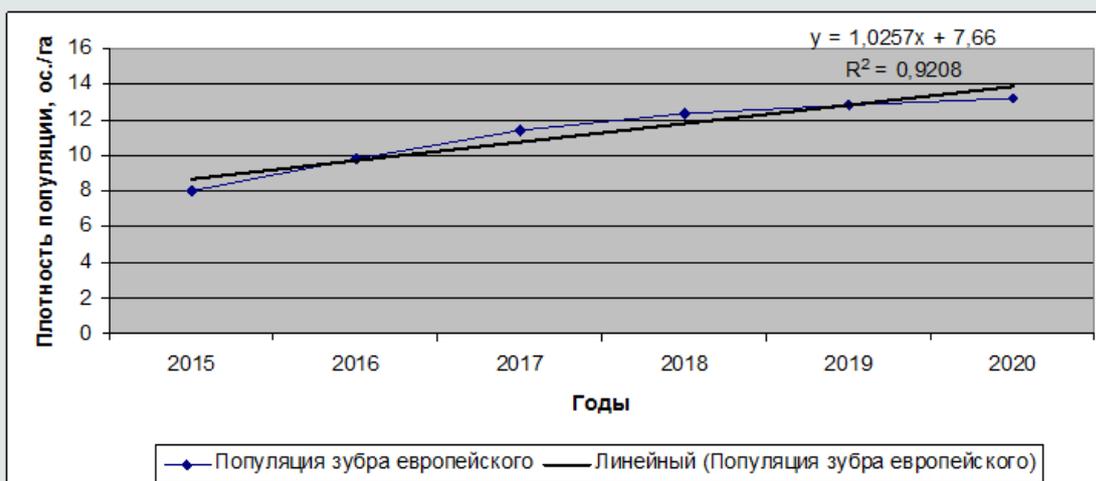


Рисунок 2. – Плотность популяции зубра европейского в ГОЛХУ «Осиповичский опытный лесхоз»

Фауна гельминтов диких копытных характеризуется богатым видовым составом, различающимся в зависимости от периода исследований. Наибольшее видовое разнообразие гельминтофауны копытных

отмечено нами в зимне-весенний период (таблица 1). Однако зараженность и интенсивность инвазии гельминтами выше в летне-осенний период.

Таблица 1. – Сравнительная характеристика гельминтофауны диких копытных в разные периоды года

Летне-осенний период	Зимне-весенний период
1	2
Количество видов/семейств/классов	
12 видов / 10 семейств / 2 класса	16 видов / 10 семейств / 3 класса
Отличающиеся виды	
<i>Neoascaris</i> sp. <i>Chabertia</i> sp.	<i>Moniezia</i> sp. <i>Ostertagias</i> p. <i>Capillaria</i> sp. <i>Nematodirus</i> sp. <i>Nemadirella</i> sp. <i>Haemonchus</i> sp. <i>Ashworthius</i> sp.
Место локализации	
Легкие, пищеварительный тракт, печень	Легкие, пищеварительный тракт, печень
Общая зараженность всех копытных	
78 %	60 %
Виды гельминтов, доминирующие по количеству найденных яиц (личинок) у копытных	
<i>Protostrongylus</i> sp. – 41 % <i>Strongyloides</i> sp. – 17 %	<i>Mulleriuscapillaries</i> – 52 % <i>Paramphistomum</i> sp. – 17 %
Виды гельминтов с минимальным количеством найденных яиц (личинок) у копытных	

Продолжение таблицы 1

1	2
<i>Trichuris</i> sp. – 0,001 % <i>Chabertia</i> sp. – 0,003 % <i>Fasciola</i> sp. – 0,004 %	<i>Fasciola</i> sp. – 1 % <i>Moniezia</i> sp. – 1 % <i>Protostrongylus</i> sp. – 1 % <i>Trichuris</i> sp. – 1 % <i>Capillaria</i> sp. – 1 % <i>Haemonchus</i> sp. – 1 % <i>Nematodirus</i> sp. – 1 % <i>Nematodirus</i> sp. – 1 % <i>Trichostrongylus</i> sp. – 1 %
Общая зараженность каждого вида копытных	
Зубр европейский – 75 % Косуля европейская – 100 % Олень благородный – 86 % Лось – 64 %	Зубр европейский – 41 % Косуля европейская – 33 % Олень благородный – 79 % Лось – 70 %
Максимальная интенсивность инвазии доминирующих видов	
<i>Neoascaris</i> sp. – 5,2 экз. (зубр европейский) <i>Protostrongylus</i> sp. – 29,5 и 8,36 экз. (лось и олень благородный) <i>Strongylus</i> sp. – 39 и 23,9 экз. (лось и олень благородный)	<i>Mulleriuscapillaries</i> – 7,53 экз. (олень благородный); <i>Paramphistomum</i> sp. – 4,7 экз. (зубр европейский)

При биохимическом исследовании проб крови установлено, что содержание общего белка в сыворотке крови инвазированных животных составляет 48,2 г/л, у неинвазированных – 79,5 г/л; концентрация мочевины и холестерина значительно меньше, чем у неинвазированных, и соответствует 2,3 ммоль/л и 2,1 ммоль/л. В то же время наблюдается увеличение уровня щелочной фосфатазы до 186 Ед/л (у неинвазированных животных – 132 Ед/л). Данные показатели указывают на наличие интоксикации, которая наблюдается на фоне хронического течения инвазионного процесса. Также при смешанной инвазии у животных отмечается увеличение уровня аланинаминотрансферазы более чем в 3 раза по сравнению с неинвазированными животными. Гельминтозные инвазии в значительной степени влияют и на клеточный состав крови зубра [6].

На снижение защитных факторов иммунной системы указывает низкая фагоцитарная активность нейтрофилов, при этом уменьшается число фагоцитов [5].

Наблюдается уменьшение количества лимфоцитов и увеличение количества мо-

ноцитов клеток на 50–100 %.

По данным Е. Sestakova и др. (2019), на токсические вещества, выделяемые паразитами, развивается аллергическая реакция, отмечается увеличение количества эозинофилов в крови [13].

Основная задача антиоксидантов состоит в предотвращении и ограничении развития патологических состояний, вызываемых окислительными повреждениями структур организма. Известно, что система антиоксидантной защиты изменяется у одного и того же вида в зависимости от условий обитания. Тем не менее, данные по антиоксидантному статусу копытных на фоне влияния различных экологических факторов, в т.ч. гельминтов, в литературе отсутствуют. Существует лишь несколько работ, посвящённых исследованию антиоксидантного статуса организма копытных в неблагоприятных экологических условиях [1].

Исследованные ткани различаются по интенсивности процессов перекисного окисления липидов. Наиболее активно свободнорадикальное окисление липидов осуществляется в сердце, легких и почках.

В этой группе органов содержание ДК у инвазированных животных составляет 21,37–26,42 ммоль/л, у интактных живот-

ных – 14,24–18,21 ммоль/л, а содержание МДА – соответственно 1,96–2,4 ммоль/л и 1,4–1,89 ммоль/л (таблица 2).

Таблица 2. – Показатели антиоксидантной системы животных: ДК и МДА

Материал	ДК, ммоль/л M±m		МДА, ммоль/л M±m		K _{МДА/ДК}	
	Интактные животные	Инвазированные животные	Интактные животные	Инвазированные животные	Интактные животные	Инвазированные животные
Плазма	4,88±0,38	7,25±0,23	0,43±0,03	0,54±0,11	0,088	0,074
Эритроциты	7,93±0,44	10,16±0,31	0,60±0,05	0,81±0,14	0,076	0,079
Мышцы	3,82±0,32	6,73±0,17	0,44±0,02	0,77±0,05	0,115	0,114
Сердце	18,21±2,25	26,42±1,12	1,40±0,16	1,96±0,21	0,077	0,074
Легкие	17,01±1,13	23,76±0,42	1,89±0,13	2,63±0,18	0,111	0,110
Печень	6,73±0,36	9,51±0,21	0,47±0,03	0,56±0,05	0,069	0,059
Почки	14,24±0,74	21,37±0,48	1,62±0,14	2,4±0,23	0,114	0,112

Снижение активности СОД, каталазы и глутатиона у инвазированных животных характеризует истощенное состояние их антиоксидантной системы на фоне образо-

вания большого количества свободных радикалов и продуктов перекисного окисления липидов (таблица 3).

Таблица 3. – Показатели антиоксидантной системы животных: СОД, каталаза, глутатион

Материал	СОД, усл. ед./мг белка M±m		Активность каталазы, усл. ед./мг белка M±m		Глутатион, нмоль/мг белка	
	Интактные животные	Инвазированные животные	Интактные животные	Инвазированные животные	Интактные животные	Инвазированные животные
Мышцы	2,45±0,29	2,16±0,25	1,23±0,14	1,14±0,16	8,78±0,21	7,32±0,33
Сердце	4,73±1,07	3,85±1,13	1,45±0,22	1,17±0,14	7,34±1,14	5,58±1,06
Печень	4,81±0,58	4,28±0,34	6,68±2,12	5,35±1,62	6,72±0,54	6,16±0,43
Почки	5,61±0,75	3,89±0,51	12,84±0,89	10,55±0,56	4,82±0,33	3,78±0,51

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований установлено, что гельминты как биотический фактор оказывают влияние на формирование устойчивости популяции. Установлено, что рост плотности населения диких копытных отражается на гельминтофауне. Снижение резистентности отдельных жи-

вотных приводит к снижению устойчивости популяции в целом. Поэтому требуется разработка новых методологических подходов в научных исследованиях, а также внедрение на их основе соответствующих схем и способов лечения и профилактики диких животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баскин, Л. М. Охрана крупных млекопитающих от индустриальных угроз / Л. М. Баскин, И. М. Охлопков. – М. : Товарищество научных изданий КМК, 2012. – С. 61–67.
2. Боровский, А. Л. Клинико-лабораторные и экспериментальные исследования растворов, содержащих активные формы кислорода, в сочетании с наночастицами : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. Л. Боровский. – Саратов, 2011. – 21 с.
3. Мальцев, Г. Ю. Способ определения активности каталазы и супероксиддисмутазы эритроцитов на анализаторе открытого типа / Г. Ю. Мальцев, А. В. Васильев // Вопросы медицинской химии. – 1994. – № 2. – С. 56–58.
4. Методы изучения стрессовых и адаптационных реакций организма по показателям системы крови: метод. пособие / А. В. Дерюгина [и др.]. – Нижний Новгород, 2010. – 25 с.
5. Полоз, С. В. Формирование иммунного ответа при становлении паразито-хозяйных отношений в экпаразитарных системах у млекопитающих / С. В. Полоз // Дни белорусской науки в Москве : сб. науч. статей. – Минск, 2017. – С. 176–179.
6. Полоз, С. В. Иммунологическая реактивность организма млекопитающих под влиянием экпаразитозов / С. В. Полоз, Е. И. Анисимова // Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики паразитарных заболеваний : материалы X респ. конф. с междунар. участием. – Витебск, 2016. – С. 171–176.
7. Пляшенко, С. И. Определение естественной резистентности организма сельскохозяйственных животных : метод. рекомендации / С. И. Пляшенко, Г. К. Волков, В. Т. Сидоров. – Минск, 1985. – 33 с.
8. Andersen, R. Short term behavioral and physiological responses of moose *Alces alces* to military disturbance in Norway / R. Andersen, J.D.C. Linnel, R. Langvant // *Biological Conservation*. – 1996. – Vol. 77. – P. 2–3.
9. MacArthur, R. A. Cardiac and behavioral responses of mountain sheep to human disturbance / R. A. MacArthur, J. B. Geist, R. H. Johnston // *Journal of Wildlife Management*. – 1982. – Vol. 46(2). – P. 351–358.
10. Nellemann, C. Effect of wild reindeer / C. Nellemann, I. Vistnes, O. Strand // *Journal of Wildlife Management*. – 2003. – Vol. 68(1). – P. 101–108.
11. Niashikimi, M. The occurrence of superoxide anion / M. Niashikimi, N.A. Rao, K. Jagi // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1992. – P. 849–854.
12. Oshino, N. The role of H_2O_2 generation in perfused rat liver and the reaction of catalase compound I and hydrogen donors II / N. Oshino, B. Chance, H. Sies // *Arch. Biochem.* – 1973. – V. 154. – P. 117–131.
13. Changes in haematological parameters in wild ruminants experimentally infected with *Haemonchus contortus* / E. Sestakova [et al.] // *Helminthologia*. – 2019. – Vol. 56. – P. 303–309.

Вакцина «РЕСПИВАК»

ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА



- вызывает выработку специфических антител у крупного рогатого скота к *Pasteurella multocida* серовариантов А, В и *Mannheimia haemolytica*;
- вводится внутримышечно;
- вакцинацию коров (телок) проводят независимо от срока стельности в дозе 2,0 см³;
- телок начинают вакцинировать с 15–16-месячного возраста;
 - телят вакцинируют с 5–10-дневного возраста в дозе 1,0 см³;
 - иммунитет наступает через 14–21 день после вакцинации и сохраняется в течение последующих 12 месяцев;
 - выпускают по 10, 20, 50, 100, 200, 400 см³;
 - срок годности вакцины – 18 месяцев при температуре от плюс 2 до плюс 8°С.

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

Ятусевич А.И., доктор ветеринарный наук, профессор
Миклашевская Е.В., старший преподаватель

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

ДЕРМАНИССИОЗ КУР В ПРОМЫШЛЕННОМ ПТИЦЕВОДСТВЕ

Резюме

В фауне эктопаразитов кур и цыплят разных возрастов на современных птицефабриках доминирующими являются кровососущие клещи *Dermanyssus gallinae*, иногда встречается *Ornithonyssus sylvarum*, которые при интенсивном нападении вызывают дерманиссиоз, что характеризуется беспокойством, анемией, кровоизлияниями, снижением продуктивности, нарушением гемостаза. Для лечения рекомендуется применять антитоксические и иммуностимулирующие средства. Для уничтожения дерманиссусов эффективен препарат «Экзолт».

Summary

In the fauna of ectoparasites of chickens and chickens of different ages in modern poultry farms, the dominant blood-sucking mites are *Dermanyssus gallinae*, sometimes *Ornithonyssus sylvarum* is found. When an intense attack causes the disease «Dermanissiosis», characterized by anxiety, anemia, hemorrhages, decreased productivity, hemostasis disorders. For treatment, it is recommended to use antitoxic and immunostimulating agents. Effective aczolt to destroy *dermanyssus*.

Поступила в редакцию 20.04.2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

Птицеводство является одной из важнейших отраслей животноводства в Республике Беларусь и играет существенную роль в обеспечении продовольственной безопасности государства [14].

Высокие производственные показатели отрасли обусловлены качественными условиями содержания и кормления птиц, профессиональным подходом в организации ветеринарно-санитарных мероприятий (Ятусевич А.И. с соавт., 2019) [2]. Вместе с тем птицеводство, особенно куриное, несет существенные затраты на мероприятия, связанные с профилактикой заразных болезней. Среди них огромное количество средств уходит на борьбу с паразитарными болезнями. В связи с переводом отрасли на промышленную основу в крупных птицеводческих предприятиях, где на ограниченных площадях концентрируется огромное количество птицы, создаются исключительные условия для развития и процветания популяции некоторых паразитических членистоногих.

Среди них в естественных и искусственных агробиоценозах значительное распространение имеют гамазовые клещи. По сообщению Водянова А.А. с соавт. (2008) [5], количество их достигает 5 тыс. видов, объединенных в 20 семейств. Большинство из них являются свободноживущими формами. Однако имеется и значительное количество паразитических видов, в том числе в фауне Беларуси (Арзамасов И.Т., 1968; Чикилевская И.В. с соавт., 1998) [3, 7].

Следует отметить, что данная группа членистоногих изучена недостаточно, что связано, по нашему мнению, с ее многочисленностью и широким ареалом распространения. По данным Никулиной Н.А. (2006), на территории России обитает 70 видов гамазовых клещей, относящихся к 5 семействам, имеющих медико-ветеринарное значение [9].

Жизнедеятельность представителей семейства *Dermanyssidae*, по сообщению автора, связана в той или иной степени с 51 видом мелких млекопитающих. По дан-

ным исследователей, дерманиссусы могут обитать как в дикой природе в гнездах птиц, так и в современных птицеводствах промышленного типа. В фауне сем. *Dermanyssidae* важное место занимают красные куриные клещи *Dermanyssus gallinae*, являющиеся кровососами, а также переносчиками возбудителей многих инфекционных болезней (Ятусевич А.И. с соавт., 2016; 2017; Ярошук А.И., 2019) [6, 11, 15]. Эти клещи являются временными эктопаразитами птиц и нападают на животных лишь для питания путем кровососания. Указанный вид клещей *Dermanyssus gallinae* распространен повсеместно во многих регионах мира (Фролов Б.А. с соавт., 1977) [13]. По данным Акбаева М.Ш. с соавт. (2008), в одном гнезде птицы может насчитываться до десяти тыс. яиц клеща [1]. Развитие клещей происходит во внешней среде при оптимальной температуре за 6–10 дней. При пониженной температуре они могут впасть в состояние анабиоза и голодать до 11 месяцев (Водянов А.А. с соавт., 2008) [5].

Вместе с тем в последние годы на некоторых птицефабриках Республики Беларусь нами выявлен северный птичий клещ *Ornithonyssus sylvarum*, относящийся к сем. *Macronyssidae*. Внешне, по размеру и цвету, он похож на красного куриного клеща *D. gallinae*, однако обитает на перьях птицы-хозяина постоянно, и весь его жизненный цикл совершается на теле животных. В фауне дерманиссиид занимает небольшую нишу (14,22 %). Предпочитает селиться на тканях вокруг и ниже клоаки и хвоста, но при интенсивной инвазии может распространяться на все части тела (Arends I.I., 2010) [16]. О наличии северного куриного клеща *Ornithonyssus sylvarum* в одном из фермерских хозяйств Минской области сообщает также Лизун Р. (2016) [8].

Инфестация на курах происходит через контакт между птицами, а также через обслуживающий персонал, оборудование и ремонтных птиц. Инвазия может проявляться в любое время года. Как показывают многочисленные данные литературы (Акбаев М.Ш. с соавт., 2008; Акбаев Р.М., 2016, Ятусевич А.И. с соавт. 2016, 2019; Беспа-

лова Н.С., Возгорькова Е.О., 2017; и др.) [1, 2, 6, 8, 10], при массовых нападениях красных куриных клещей на птиц значительно ухудшается общее состояние последних, снижается продуктивность, может наблюдаться падеж, особенно молодняка. Такое состояние птицы исследователи квалифицируют как самостоятельную нозологическую единицу (болезнь) под названием дерманиссиоз. Встречается у многих видов птиц (куры, цесарки, гуси, утки, индейки, голуби и многочисленные виды гнездовых птиц), по сообщениям многих ученых, особенно страдает молодняк.

Акбаев М.Ш. с соавт. (2008) пишет о массовом падеже цыплят недельного возраста при интенсивном нападении красных куриных клещей [5]. Вместе с тем следует отметить, что механизм развития патологических процессов, паразито-хозяйинные отношения при массовом нападении дерманиссусов у птиц не изучены. Не разработаны способы лечения и профилактики данной патологии.

При борьбе с эктопаразитами, которые широко распространены и многочисленны на птицефабриках, где наблюдается большая концентрация птицепоголовья, ранее использовали фосфорорганические препараты, а сейчас в основном применяют синтетические пиретроиды (стомазан, фармастомазан, бутокс, перметрин).

Постоянно идет поиск новых химических соединений и других средств для борьбы с эктопаразитами ввиду отрицательного влияния этих веществ не только на птиц, но и, в конечном итоге, на организм человека. Некоторые применяемые на практике препараты не оправдывают себя, являясь малоэффективными либо высокотоксичными, дорогостоящими или малодоступными. Поэтому постоянно ищутся препараты, применение которых обеспечило бы хорошее лечебное действие, было экологически безопасным и повышало экономическую эффективность ветеринарно-санитарных мероприятий.

Цель работы – изучение распространения дерманиссусов в современных

птицеводческих хозяйствах, их роль в патологии птицы и разработка мероприятий по предупреждению дерманиссиоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнялась в птицеводческих хозяйствах промышленного типа северо-восточного региона Республики Беларусь, клинике и научно-исследовательских лабораториях кафедр паразитологии и зоологии УО ВГАВМ.

На первом этапе нашей работы с целью изучения фауны и распространения эктопаразитов кур нами были проведены акарологические исследования на территории птицефабрик Витебской области Республики Беларусь (ОАО «Витебская бройлерная птицефабрика», ОАО «Птицефабрика Городок» и РУСПП «Птицефабрика Оршанская», АУ «Глубокская птицефабрика»).

Для этого с помощью бинокулярной лупы тщательно обследовали подстилку, щели, трещины в стенах, клетки. Трещины и щели в насестах, опорных столбах, деревянных и оштукатуренных стенах, потолке, под подоконниками, в оконных рамах и т.д. осматривали и обследовали при помощи анатомического пинцета и проволочных крючков. Клещей собирали в чашку Петри, сметали их с нижней поверхности насестов акварельной кисточкой или постукивали по насестам легким молоточком. Из чашек Петри и с бумаги клещей переносили в стеклянную посуду и заливали фиксирующей жидкостью или оставляли в пробирках живыми.

С целью установления зараженности птицепоголовья АУ «Глубокская птицефабрика» эктопаразитами и определения количества клещей на 48 часов были установлены ловушки «Avivet» (рисунок 1), затем они были вскрыты, а клещи подсчитаны с использованием стереомикроскопа и дифференцированы.

Видовую принадлежность клещей определяли с помощью справочного издания «Фауна СССР. Паукообразные» (1953).



Рисунок 1. – Ловушка «Avivet»

С целью изучения симптоматики и патогенеза дерманиссиоза нами были проведены наблюдения за молодняком и взрослыми курами на ОАО «Витебская бройлерная птицефабрика» и АУ «Глубокская птицефабрика». На ней же были собраны живые клещи *Dermanyssus gallinae* с помощью ловушек «Avivet», предоставленных нам фирмой «Интервет Продакшинз С.А.», Иговиль, Франция.

В дальнейшем отловленные клещи *Dermanyssus gallinae* помещались в ночное время на тело взрослых кур в количестве $300 \pm 11,4$ особей на 1 голову. За птицей опытной и контрольной групп (по 5 голов в каждой) вели ежедневные клинические наблюдения и изучали динамику морфологических и биохимических показателей крови с использованием биохимического анализатора крови «Mindray BC-200» и спектрофотометра «PB-2201».

На заключительном этапе исследований были проведены опыты по изысканию средств терапии и профилактики арахнозов в птицеводствах.

Была изучена эффективность акарицидного средства «Экзолт», действующим веществом которого является флураланер – мощный ингибитор некоторых участков нервной системы членистоногих, антагонистически действующий на управляемые лигандами хлоридные каналы (рецептор ГАМК и глутаматный рецептор). Он нарушает жизненный цикл клещей, прекращая способность самок продуцировать яйца.

После перорального введения флураланер легко и быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте, поступает в системный кровоток, достигая максимальных концентраций в плазме через 36 часов после первого применения и через 12 часов после приема второй дозы методом выпаивания с питьевой водой. Флураланер широко распределяется по всему организму, и самые высокие концентрации отмечаются в печени, коже и жире. Выводится главным образом через печень.

Перед производственным опытом были проведены лабораторные исследования на 10 курах в клинике кафедры паразитологии УО ВГАВМ. Животные были разделены на две группы: опытную (5 голов) и контрольную (5 голов). Перед назначением препарата и на 2-й, 5-й, 7-й, 12-й, 22-й, 32-й дни исследован морфологический и биохимический состав крови кур, которую брали из подкрыльцовой вены.

Производственные опыты проведены на 46477 курах-несушках в птичнике № 7 АУ «Глубокская птицефабрика». Испытываемый препарат задавался птице путем выпаивания с питьевой водой в дозе 0,5 мг флураланера на 1 кг массы тела двукратно с интервалом 7 дней. В качестве контроля служили куры птичника № 9, которым не применялись инсектоакарициды. За 3 дня до выпаивания препаратом «Экзолт» в птичниках, взятых в опыт, расставляли на 48 часов ловушки «Avivet» (n=20). Эффективность испытываемого препарата учитывали подсчетом клещей *Dermanyssus gallinae* в обоих птичниках на 4-й, 10-й, 15-й и 30-й дни после начала лечения. В ходе испытаний за всей птицей проводилось постоянное клиническое наблюдение, учитывали сохранность в опытных и контрольных группах.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Многочисленные акарологические исследования в северо-восточном регионе Республики Беларусь (2008–2019 гг.) на высокотехнологичных птицефабриках (ОАО «Витебская бройлерная птицефабрика», ОАО «Птицефабрика Городок» и РУСПП

«Птицефабрика Оршанская», АУ «Глубокская птицефабрика») показали высокую инфеcтацию птицы разных возрастов кровососущими клещами-дерманиссусами. На одной из них – ОАО «Птицефабрика Городок» – впервые обнаружен северный птичий клещ *Ornithonyssus sylvarum*.

При исследовании хозяина клещей было выделено 3 возрастные группы: цыплята, молодые и взрослые куры. К первой группе отнесены цыплята от рождения до 15-дневного возраста, ко второй группе – молодняк кур 3–7-недельного возраста, последнюю группу составили куры-несушки от 180 суток. При осмотре птицы в сумеречное время обнаруживали клещей на всей поверхности тела. Цыплята подвергались нападению и заражению вскоре после их пересадки из инкубатория в птичник; источником инвазии являются производственные помещения. При этом дерманиссовые клещи были установлены у 61 % исследованных цыплят.

При обследовании взрослых птиц на наличие клещей и насекомых производили их выборочный осмотр. Всего обследовано 450 кур в ОАО «Птицефабрика Городок». Из 450 кур-несушек зараженными оказались 387, т.е. 86 %. Самым частым паразитом был куриный клещ *Dermanyssus gallinae*, найденный у 306 несушек, или у 68 % всех зараженных клещами; северный птичий клещ *Ornithonyssus sylvarum* найден у 64 кур, т.е. у 14,22 %. Встречались как чистые, так и смешанные инвазии, последние были сравнительно редки.

Наиболее часто и в большом количестве *Dermanyssus gallinae* обнаруживался в местах обитания (пылевые скопления – 160±51 экз. в 1 г пробы; щели стен – 150±48 экз.; клетки – 120±5 экз.; яичный транспортер – 120±16 экз.).

На теле птиц в дневное время клещей обнаруживали редко, однако по мере наступления темноты численность их возрастала. Наряду с кровососущими клещами, у птиц выявлены пухопероеды *Menopon gallinae* с экстенсивностью инвазии 88,9 %, *Menacanthus stramineus* (5,46 %),

Gonocotes gallinea (3,06 %), *Lipeurus variabilis* (2,56 %). Вместе с тем в обследованных хозяйствах наблюдается большая колонизация птичников жесткокрылыми (жуками). Так, в помещениях ОАО «Витебская бройлерная птицефабрика» количественный состав популяции мучного хрущака бурого (*Alphitobius diaperinus*) достигал 300 экземпляров на 1 м². Установлено также паразитирование клопов *Cimex lectularius*, нападающих на птиц для кровососания.

Данные исследований свидетельствуют о наличии благоприятных условий для распространения куриных клещей и их существования: в птицеводческих помещениях формируется своеобразный микроклимат; наличие мест для локализации клещей; резистентность клещей к постоянно используемым препаратам.

Анализ состояния здоровья птиц, пораженных кровососущими клещами *Dermanyssus gallinae*, показывает, что особенно тяжело болеют при массовых укусах цыплята, однако каких-либо внешних специфических клинических признаков не наблюдается. Обычно молодняк птицы отстает в развитии, менее активен, отличается бледностью гребешка и сережек. В то же время взрослые куры активно реагируют на укусы клещей, что подтверждено и нашими опытами.

Анализ клинических признаков показал, что уже через 2–3 часа после подсадки клещей *Dermanyssus gallinae* куры проявляют признаки беспокойства, начинают расчесывать клювом перьевой покров, совершать клевательные движения по коже. На кожных покровах появляются красные пятна, которые в течение 2–3 дней значительно увеличиваются в размерах, возникают многочисленные точечные и полостные кровоизлияния, расклевы тела в доступных местах (рисунок 2).

Сон у кур беспокойный, отмечают периодические вздрагивания тела, непроизвольные гортанные звуки. Постепенно развивается анемия гребня и сережек. В течение трех недель масса тела у кур опытной группы уменьшилась на 24–28 %. Прекратилась яйценоскость. В крови у больных

птиц установлено резкое снижение количества эритроцитов (на 26–32 %) и гемоглобина (18–26 %, $P < 0,05$), лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови (24–33 %, $P < 0,01$, $P < 0,05$), увеличилось содержание аспаратаминотрансферазы (18–24 %, $P < 0,001$) и аланинаминотрансферазы. Отмечено нарушение белкового и углеводного обмена, снижение содержания в сыворотке крови кальция, фосфора, железа и магния.

Изученные нами паразито-хозяйственные отношения при дерманиссиозе кур показывают, что на нынешнем этапе развития промышленного птицеводства возникает острая необходимость организации системных мер борьбы с популяциями красных куриных клещей *Dermanyssus gallinae*, наносящих огромный скрытый экономический ущерб отрасли в силу особенностей их биологии, экологии и вредоносного влияния.



Рисунок 2. – Клинические признаки дерманиссиоза у петуха

В случае заболевания птицы дерманиссиозом необходимо предпринять меры для предотвращения нападения клещей на животных, что весьма затруднительно, так как *Dermanyssus gallinae* являются периодическими эктопаразитами. Предпринимаются меры по лечению больной птицы с помощью препаратов, стимулирующих кроветворение, повышающих естественную резистентность и обладающих антитоксическим действием. Важнейшим этапом в борьбе с *Dermanyssus gallinae* является уничтожение клещей на объектах внешней среды в птичниках. В период са-

нитарных разрывов производят очистку помещений, предметов ухода и оборудования и обработку акарицидными или дезинфицирующими средствами. Однако избавиться от паразитов полностью не всегда удается. Для уничтожения *Dermanyssus gallinae* в помещениях в присутствии птицы нами испытан препарат «Экзолт» в лабораторных и производственных условиях.

Установлено, что проявление активности препарата против *Dermanyssus gallinae* отмечается в течение 4 часов после того, как клещи начали паразитировать на курах, подвергнутых обработке. При этом нарушается жизненный цикл клещей из-за прекращения способности самок продуцировать яйца.

На первоначальном этапе были проведены лабораторные опыты в условиях клиники кафедры паразитологии УО ВГАВМ на 10 курах-несушках. Анализ результатов морфологического и биохимического состава крови у птиц опытной группы показал, что экзолт в терапевтической дозе существенно не влияет на содержание эритроцитов ($2,17 \pm 0,18 \cdot 10^{12}/л$, $P < 0,01$), лейкоцитов ($27,8 \pm 2,62 \cdot 10^9/л$, $P < 0,001$), гемоглобина ($89,5 \pm 3,70$ г/л, $P < 0,05$), общего белка ($23,5 \pm 1,43$ г/л, $P < 0,01$) и белковых фракций. Применение препарата полностью избавило помещение от *Dermanyssus gallinae*, также птица опытной группы полностью освободилась от пухопероедов.

Производственные опыты проведены на 46477 курах-несушках в птичнике № 7 АУ «Глубокская птицефабрика». Испытываемый препарат задавался птице путем выпаивания с питьевой водой в дозе 0,5 мг флураланера на 1 кг массы тела птицы двукратно с интервалом 7 дней. В качестве контроля служили куры птичника № 9, которым не применялись инсектоакарициды. За три дня до выпаивания препаратом «Экзолт» в птичниках, взятых в опыт, составляли на 48 часов ловушки «Avivet» ($n=20$) для клещей *Dermanyssus gallinae* с целью их подсчета. Эффективность испытываемого препарата учитывали подсчетом клещей в обоих птичниках на 4-й, 10-й, 15-й и 30-й дни после начала лечения. В хо-

де испытаний за всей птицей проводилось постоянное клиническое наблюдение, учитывали сохранность кур в опытных и контрольных группах.

Перед опытом в производственных условиях установлена высокая степень инфекации *Dermanyssus gallinae*. В ловушках из птичника № 7 АУ «Глубокская птицефабрика» выявлено 5423 особи клеща, из птичника № 9 – 4825.

В опытной группе на начало применения препарата «Экзолт» обнаружено в 20 ловушках 5423 клещей *Dermanyssus gallinae*. Резкое снижение популяции клеща нами выявлено на 4-й день после начала лечения. Живые стадии *Dermanyssus gallinae* не обнаруживались до конца опыта (30-й день). В контрольном птичнике № 9 популяция клещей на протяжении опыта оставалась стабильной и составила $4643,2 \pm 687,1$ экз.

Сохранность птицепоголовья были примерно одинаковой в обеих группах (98,2–98,6 %). Препарат не оказал существенного влияния на яйценоскость (71,93±0,59 % и 71,28±0,35 %). Следует также отметить, что использование экзолта не требует ограничения по использованию куриных яиц для пищевых целей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В популяции членистоногих – эктопаразитов птиц в современных птицеводческих хозяйствах доминирует кровососущий клещ *Dermanyssus gallinae*. Впервые в промышленном птицеводстве выявлен *Ornithonyssus sylvarum*. Среди постоянных эктопаразитов кур установлены следующие виды пухопероедов: *Menopon gallinae*, *Menacanthus stramineus*, *Goniocotes gallinae* и *Lipeurus variabilis*. При интенсивном нападении кровососущих клещей *Dermanyssus gallinae* развивается самостоятельная болезнь дерманиссиоз, характеризующаяся беспокойством птицы, анемией, исхуданием, кровоизлияниями на коже, расклевами, снижением продуктивности, нарушением гемопоэза, снижением естественной резистентности и иммунологической реактивности, ферментных систем и обмена веществ. Препарат «Экзолт» являет-

ся высокоэффективным акарицидным средством борьбы с красным куриным клещом, легко вписывается в технологию ветеринарных мероприятий и не оказывает отрицательного влияния на организм кур. Для предотвращения потерь от дерманиссиоза необходи-

мо проводить комплекс мероприятий по дезинвазии внешней среды, уничтожению клещей в птичниках в период производственного цикла и назначение препаратов для повышения естественной устойчивости птицы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акбаев, Р. М. О проблемах борьбы с клещом *Dermanyssus gallinae* в промышленном птицеводстве / Р. М. Акбаев, Ф. И. Василевич // *Ветеринария*. – 2016. – № 10. – С. 30–33.
2. Арахноэнтомозные болезни животных : монография / А. И. Ятусевич [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2019. – 304 с.
3. Арзамасов, И. Т. Гамазовые клещи фауны Белоруссии / И. Т. Арзамасов. – Минск : Наука и техника, 1968. – 67 с.
4. Беспалова, Н. С. Акарология для ветеринарных врачей : пособие для межвузовского использования в учебных организациях, реализующих программы высшего образования по специальности «Ветеринария» / Н. С. Беспалова, Е. О. Возгорькова. – СПб. : Лань, 2017. – 208 с.
5. Водянов, А. А. Ветеринарная акарология / А. А. Водянов, Ф. И. Василевич, Р. М. Акбаев // *Паразитология и инвазионные болезни животных : учебник для студентов вузов, обучающихся по специальности «Ветеринария»* / М. Ш. Акбаев [и др.] ; ред. М. Ш. Акбаев. – 3-е изд., перераб. и доп. – М. : КолосС, 2008. – С. 609–643.
6. Выращивание и болезни птиц : практическое пособие / А. И. Ятусевич [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2016. – 535 с.
7. Клещи (ACARI) фауны Беларуси : каталог / И. В. Чикилевская [и др.] ; Национальная академия наук Беларуси, Институт зоологии. – Минск : БелАДИ, 1998. – С. 2, 5–7, 167–169.
8. Лизун, Р. Как бороться с клещами в птичнике? / Р. Лизун // *Белорусское сельское хозяйство*. – 2016. – № 8. – С. 44–46.
9. Никулина, Н. А. Население гамазовых клещей мелких млекопитающих в природных комплексах России : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.16 / Н. А. Никулина ; Красноярский государственный аграрный университет. – Красноярск, 2006. – 29 с.
10. Паразитология и инвазионные болезни животных : учебник для студентов вузов, обучающихся по специальности «Ветеринария» / М. А. Акбаев [и др.] ; под ред. М. А. Акбаева. – М. : Колос, 2008. – С. 609–613.
11. Паразитология и инвазионные болезни животных : учебник для студентов учреждений высшего образования по специальности «Ветеринарная медицина» / А. И. Ятусевич [и др.] ; ред. А. И. Ятусевич. – Минск : ИВЦ Минфина, 2017. – 544 с.
12. Фауна СССР: наукообразные. Т. 6. Вып. 6. Перьевые клещи (*Analgesoidea*). Ч. 2. Семейства *Epidertoptidae* и *Freyanidae* / В. Б. Дубинин ; ред. Е. Н. Павловский. – М. ; Л. : Издательство Академии наук СССР, 1953. – 411 с.
13. Фролов, Б. А. Меры борьбы с эктопаразитами птицы / Б. А. Фролов, Р. В. Чирикашвили, Ш. Качекова. – М., 1977. – С. 2–8.
14. Шейко, И. П. Модели развития белорусского животноводства / И. П. Шейко, Р. И. Шейко // *Доклады Национальной академии наук Беларуси*. – 2018. – Т. 62, № 4. – С. 504–512.
15. Яроцук, А. И. Разработка мер борьбы с эктопаразитами сельскохозяйственной птицы в условиях современного промышленного птицеводства : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук / А. И. Яроцук. – СПб., 2019. – 23 с.
16. Arends, J. J. Наружные паразиты домашней птицы / J. J. Arends ; под ред. Б. У. Кэлнека [и др.]. – М. : Аквариум, 2003. – С. 903–1045.

Воробьева И.Ю., магистр ветеринарных наук, ассистент

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

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА «ПРАЗИТЕКС-5» ПРИ ИМАГИНАЛЬНЫХ ЦЕСТОДОЗАХ СОБАК

Резюме

Цестодозы являются повсеместно регистрируемыми гельминтозами и представляют серьёзную проблему для ветеринарии и медицины. Циркуляция возбудителей цестодозов обусловлена не только биологией паразитов, но и недостатками в системе диагностических, санитарно-гигиенических и ветеринарных мероприятий при содержании и выращивании домашних животных, в том числе собак.

*В настоящее время актуальными являются вопросы изыскания новых и оптимизации известных форм лекарственных средств для лечения и профилактики имагинальных цестодозов плотоядных. Данное исследование демонстрирует эффективность использования препарата «Празитекс-5», разработанного с участием автора, в дозе 5 мг/кг массы тела подкожно для лечения собак при имагинальных цестодозах (*Taenia pisiformis*, *T. hydatigena*, *Dipylidium caninum*).*

Summary

Cestodoses are often recorded helminthic diseases and represent a serious problem for veterinary and human medicine. The circulation of cestodosp pathogens is caused not only by the biology of the parasites, but also by shortcomings in the system of diagnostic, sanitary and veterinary measures for the maintenance and breeding of domestic animals, including dogs.

*Currently relevant are the issues of finding new and optimizing forms of known drugs for the treatment and prevention of imaginal cestodoses carnivorous. The study reveals the efficiency of using Prazitexum-5 at a dose of 5 mg/kg of body weight subcutaneous for the treatment of dogs against the imaginal cestodes (*Taenia pisiformis*, *T. hydatigena*, *Dipylidium caninum*).*

Поступила в редакцию 20.04.2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

Паразитарные заболевания до настоящего времени остаются серьёзной угрозой для здоровья человека и животных. Интенсивные тенденции урбанизации и глобализации в современном мире, влияние многих экологических и биологических факторов в ряде случаев способствуют распространению инвазий и переносчиков паразитарных заболеваний. Транснациональные перемещения животных вследствие торговли и контрабанды объектами дикой природы, недостатки в системе диагностических, санитарно-гигиенических и ветеринарных мероприятий при содержании и выращивании домашних животных, явление адаптации паразитов к новым хозяевам приводит к напряжённой эпидемиологической и эпизоотической ситуации. Так, сум-

марная заболеваемость населения Республики Беларусь гельминтозами согласно данным государственного доклада на 2016 г. составила 131,04 на 100 тыс. населения. В общем объёме гельминтозов фигурировали такие нозоформы цестодозов, как гименолепидоз, дифиллоботриоз, спарганоз, тениаринхоз, цистицеркоз, эхинококкоз [1]. По данным госдоклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации», в 2017 году суммарно зарегистрировано более 317,3 тыс. случаев паразитарных заболеваний, показатель заболеваемости составил 216,34 на 100 тыс. населения. В структуру гельминтозов входят такие нозоформы цестодозов, как дифиллоботриоз, эхинококкоз, альвеококкоз, тениоз, тениаринхоз [2]. По данным сводного отчета Евро-

пейского союза 2016 года, среди выявляемых случаев гельминтозов заболеваемость эхинококкозом составляет 0,20 на 100 тыс. населения [3].

Особую роль в распространении возбудителей цестодозов играют собаки. Так, на территории Республики Беларусь у собак регистрируется паразитирование следующих видов возбудителей цестодозов: *Dipylidium caninum*, *Taenia hydatigena*, *Taenia pisiformis*, *Taenia krabbei*, *Taenia crassiceps*, *Diphyllobothrium latum*, *Spirometra erinacei-europaei*, *Mesocostoides lineatus*, *Echinococcus granulosus*, *Tetratirotaenia polyacanta* [4, 5].

Способствуют распространению паразитов ограниченность мест выгула и высокая численность собак в городских условиях, недостаточный контроль численности безнадзорных собак, разнообразие путей передачи возбудителя инвазии, а также высокая устойчивость и широкая циркуляция возбудителей во внешней среде [6].

Одним из механизмов борьбы с цестодами собак является применение химиотерапевтических средств.

На рынке ветеринарных препаратов на сегодняшний день представлен ряд средств, созданных на основе субстанций, обладающих противоцестодозным действием (фенбендазол, альбендазол, мебендазол, никлозамид, празиквантел). Многие отечественные и зарубежные авторы и исследователи в своих работах отмечали достаточную эффективность препаратов на основе празиквантела при противоцестодозной терапии собак. Так, по литературным данным, в ходе сравнительных исследований пероральные и накожные препараты на основе празиквантела (азинокс-плюс, дронтал-плюс, гелмимакс, працид суспензия, прател, эндогард, *Milbemax*®, *Drontal Plus Flavour*®, *Nemex*®, *Празител*®, гелминтал) демонстрировали противоцестодозную эффективность в пределах 85–100 % [6, 7, 17–20].

Однако на эффективность препаратов могут оказывать влияние различные факторы, такие как лекарственная форма,

путь введения, метод применения и др. Важными составляющими эффективной противоцестодозной терапии собак является удобство введения препарата, что тесно связано с его поедаемостью, реакцией препарата на среду слизистой оболочки ротовой полости (что провоцирует слюнотечение и потерю препарата), растворимостью препарата в водной среде, а также дозой и кратностью введения [7].

Повышение эффективности дегельминтизации, разработка и апробация оптимальных форм антигельминтиков, обеспечивающих высокую эффективность и биобезопасность при наименьших затратах, является актуальной проблемой современной ветеринарной паразитологии [8–16].

Вышеизложенное определило **цель** исследования – определить эффективность инъекционного препарата «Празитекс-5» при имагинальных кишечных цестодах собак.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Препарат «Празитекс-5» разработан сотрудниками УО ВГАВМ: доцентом Мироненко В.М., ассистентом Воробьевой И.Ю. и ассистентом Кирищенко В.Г. Целью разработки являлось создание современного отечественного высокоэффективного противоцестодозного препарата, который может обеспечить устойчивое благополучие на территории Беларуси по основным социально и экономически значимым цестодам среди различных групп животных. Высокая эффективность достигается точным дозированием за счет инъекционного пути введения, а также выбранного действующего вещества (празиквантел), обладающего в настоящее время наивысшей противоцестодозной эффективностью. Производство препарата освоено на ОАО «Белвитунифарм».

Препарат «Празитекс-5» (*Prazitexum-5*) представляет собой прозрачную жидкость от бесцветного до розового цвета. Активнодействующим веществом в препарате является празиквантел (в 1,0 см³ препарата содержится 50 мг празиквантела).

Празиквантел – антигельминтное средство из группы изохинолинов (является дериватом пиразиноизохинолина), обладает сильным противоцестодозным действием в отношении взрослых и молодых форм *Moniezia expansa*, *Moniezia benedeni*, *Taenia pisiformis*, *Dipylidium caninum* и др. Он повышает проницаемость мембран клеток гельминтов для ионов кальция (и некоторых других одно- и двухвалентных катионов). Происходит деполяризация нейромышечных ганглиоблокаторов, нарушается транспорт глюкозы и микротубулярная функция, что вызывает нарушение мышечной иннервации и вакуолизацию эпителия, паралич и гибель гельминтов. Препарат адсорбируется в кишечнике, быстро поступает в печень и метаболизируется. Максимальная концентрация создается через 1–3 часа. Выводится празиквантел преимущественно почками (80 % – в виде метаболитов), при этом 90 % – в первые 24 часа, у лактирующих животных также с молоком.

Изучение противоцестодозной эффективности препарата «Празитекс-5» проведено в приюте для животных ГП «Спецавтобаза г. Витебска», а также на базе вивария и клиники кафедры паразитологии и инвазионных болезней УО ВГАВМ. Для испытаний использовали собак, спонтанно инвазированных кишечными цестодами (*Taenia pisiformis*, *T. hydatigena*, *Dipylidium caninum*). Перед началом испытаний было проведено копроскопическое исследование проб фекалий от данных животных, в результате которого было установлено, что экстенсивность цестодозной инвазии составляет 100 %. На основании полученных данных животных разделили на опытную и контрольные группы (зараженный и незараженный контроль). Общее число животных, задействованных в опыте, составило 60 голов.

Эффективность препарата определяли исходя из результатов копроскопических исследований контрольных и опытной групп, которые проводились на 3-и, 5-е, 10-е, 20-е сутки после введения препарата. Для оценки терапевтической эффективности испытуемого препарата определяли ин-

тенсивность и экстенсивность инвазии (ИИ, ЭИ).

Для исследования фекалий использовали общепринятые паразитологические и статистические методы и программные продукты, а также универсальный количественный седиментационно-флотационный метод с центрифугированием для диагностики низкоинтенсивных инвазий [12].

Животные опытной группы (n=30) были обработаны препаратом «Празитекс-5» в дозе 1 мл/10 кг (5 мг/кг по АДВ) массы тела животного подкожно однократно. Собак контрольной группы (n=15), у которых были обнаружены возбудители (зараженный контроль), обработкам не подвергали. Собак контрольной группы (n=15), у которых возбудители обнаружены не были (незараженный контроль), обработкам также не подвергали.

В отдельных случаях при применении препарата на месте введения образовывалась исчезающая со временем припухлость. У некоторых животных при введении препарата отмечалась незначительная болезненность.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты изучения противоцестодозной эффективности препарата «Празитекс-5» при имагинальных цестодозах собак представлены в таблице.

В результате исследований установлено, что экстенсивность эффективности препарата «Празитекс-5» при цестодозной инвазии вышеуказанными возбудителями составляет 100 %, при этом снижение интенсивности и экстенсивности инвазии регистрировали уже на 5-й день (максимальные показатели ИИ снизились с 106 до 15 яиц гельминтов/1,0 фекалий, ЭИ – со 100 до 40 %). Изменений со стороны клинического статуса животных не наблюдалось. Максимальный показатель ИИ и ЭИ животных контрольных групп составлял 120 яиц гельминтов/1,0 фекалий и 100 % соответственно. У животных группы незараженного контроля в процессе опыта инвазионное начало в фекалиях выявлено не было.

Таблица. – Экстенсивность препарата «Празитекс-5» при цестодозной инвазии собак

Группа	Число собак в группе	Вид гельминта	Число инвазированных собак		Эффективность, %	Max-min число яиц гельминтов в 1,0 фекалий		Эффективность, %
			до лечения	на 20-е сутки		до лечения	на 20-е сутки	
Опытная	30	<i>Taenia pisiformis</i>	10	0	100	106–45	0	100
		<i>Taenia hydatigena</i>	10	0	100	110–42	0	100
		<i>Dipylidium caninum</i>	10	0	100	78–30	0	100
Контроль зараженный	15	<i>Taenia pisiformis</i>	5	5	0	118–32	120–27	0
		<i>Taenia hydatigena</i>	5	5	0	96–16	102–15	0
		<i>Dipylidium caninum</i>	5	5	0	85–27	80–31	0
Контроль незараженный	15	-	0	0	0	0	0	

Исследование раскрывает степень эффективности и возможность применения препарата «Празитекс-5» в качестве безопасного средства для терапии собак при имагинальных цестодозах. Применение подобного инъекционного препарата нивелирует потери лекарственного средства при неполном его поедании, тем самым гарантирует высокую эффективность и биодоступность активного действующего вещества. Кроме того, инъекционная форма празиквантела может эффективно профилактировать и бороться с ларвальными формами цестодозов, которые сложно диагностировать у плотоядных [20].

В настоящее время проводится цифровая обработка биохимических показателей крови собак при использовании препарата «Празитекс-5». Разрабатывается схема опыта по изучению влияния препарата на организм «старых» животных для исклю-

чения нерациональной лекарственной нагрузки и возможных ограничительных факторов применения препарата по состоянию здоровья животных [7, 21, 24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение препарата «Празитекс-5» в дозе 5 мг/кг (по АДВ) массы тела животного подкожно однократно обеспечивает высокую эффективность при дегельминтизации собак, инвазированных имагинальными формами цестод (*Taenia pisiformis*, *T. hydatigena*, *Dipylidium caninum*). Отрицательного влияния данного средства на клинический статус животных не выявлено. Данный инъекционный препарат обеспечивает высокую точность дозирования лекарственного средства и обладает высокой степенью эффективности при лечении кишечных цестодозов.

ЛИТЕРАТУРА

1. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Республике Беларусь в 2015 году: государственный доклад от 18 января 2016 г. [Электронный ресурс] – 2016. – Режим доступа: <http://www.vzcege.by/new/gosudarstvennyy-doklad-o-sanitarnoepidemiologicheskoy-0>. – Дата доступа : 20.09.2017.
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году : Государственный доклад [Электронный ресурс] – 2018. – Режим доступа : http://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/c51/gd_2017_seb.pdf. – Дата доступа : 15.09.2018.

3. *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. EFSA Journal [Electronic resource]. – 2015. – Mode of access : <https://10.2903/j.efsa.2016.4634>. – Date of access : 17.09.2018.*

4. Дубина, И. Н. *Имагинальные цестодозы плотоядных животных Беларуси / И. Н. Дубина // Ветеринария. – 2003. – № 9. – С. 28–30.*

5. Субботин, А. М. *Гельминтоценозы животных Беларуси (парнокопытные и плотоядные), их лечение и влияние на микробиоценоз организма хозяина: монография / А. М. Субботин. – Витебск : ВГАВМ, 2010. – 212 с.*

6. Домацкий, В. Н. *Средства терапии и профилактики паразитозов собак и кошек / В. Н. Домацкий // Успехи современной науки. – 2016. – Т. 9, № 11. – С. 93–96.*

7. *Эффективность нового антигельминтного препарата Празител® Особый при лечении кишечных гельминтозов собак старше 6 лет / В. А. Оробец [и др.] // Российский ветеринарный журнал. – 2018. – № 2. – С. 45–48.*

8. Конахович, И. К. *Эффективность ивермектина при мюллериизе овец / И. К. Конахович, В. М. Мироненко // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : материалы XVIII междунар. научн.-практ. конф., посвященной 85-летию зооинженерного факультета и 175-летию УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия», УО БГСХА. – Горки, 2015. – С. 442–443.*

9. Конахович, И. К. *Эффективность кальбазена при мюллериизе овец / И. К. Конахович, В. М. Мироненко // Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии : материалы III междунар. конгресса вет. фармакологов и токсикологов, Санкт-Петербург, 21–22 мая 2014 г. / Санкт-Петербургская гос. акад. вет. медицины. – СПб., 2014. – С. 121–122.*

10. *Лечение животных при имагинальных цестодозах и нематодозах / В. М. Мироненко [и др.] // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. – М., 2014. – № 15. – С. 157–159.*

11. Мироненко, В. М. *Применение байкокса и альверма при эймериозно-нематодозных инвазиях крупного рогатого скота / В. М. Мироненко // Исследования молодых ученых в решении проблем животноводства : материалы IV Междунар. научн.-практ. конф., УО ВГАВМ. – Витебск, 2005. – С. 113–114.*

12. Мироненко, В. М. *Способ лечения телят при эймериозно-стронгилоидозной инвазии / В. М. Мироненко // Экология и инновации : материалы VII Междунар. научн.-практ. конф., УО ВГАВМ. – Витебск, 2008. – С. 176–178.*

13. Мироненко, В. М. *Эймериозы крупного рогатого скота и современные препараты для борьбы с ними / В. М. Мироненко // Ученые записки Учреждения образования Витеб. гос. акад. вет. медицины : научн.-практ. журн. – 2006. – Т. 42. – № 2-2. – С. 169–172.*

14. Мироненко, В. М. *Эффективность байкокса при эймериозе крупного рогатого скота / В. М. Мироненко, В. А. Винарский, Е. Г. Маковский // Ученые записки Учреждения образования Витеб. гос. акад. вет. медицины : научн.-практ. журн. – 2006. – Т. 40. – № 1. – С. 258–259.*

15. Мироненко, В. М. *Гельминтозы и кишечные протозоозы животных зоопарков Беларуси / В. М. Мироненко // IV Машеровские чтения : материалы междунар. научн.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, УО ВГУ. – Витебск, 2010. – С. 137–138.*

16. *Применение новых комплексных сульфаниламидсодержащих препаратов при эймериозах телят / В. М. Мироненко [и др.] // Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения : материалы XI междунар. научн.-производств. конф., ХГЗВА. – Харьков, 2007. – С. 109.*

17. Ястреб, В. Б. *Эффективность Аверсекта Плюс при цестодозах и нематодозах собак и кошек / В. Б. Ястреб, Т. С. Новик, Ж. М. Валиева // Российский паразитологический журнал. – 2012. – С. 121–124.*

18. *Изучение переносимости и эффективности нового комплексного препарата Гельминтал таблетки на основе моксидектина и празиквантела / М. В. Арисов [и др.] // Российский паразитологический журнал. – 2016. – Т. 36. – Вып. 2. – С. 403–407.*

19. *Helminth control in kennels: is the combination of milbemycin oxime and praziquantel a right choice? / L. Rinaldi [et al.] // Parasites & Vectors. – 2015. – Mode of access : <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0647-2> – Date of access : 17.07.2015.*

20. *Pharmacokinetics of a novel spot-on formulation of praziquantel for dogs / M. L. Gutiérrez [et al.] // Veterinary Parasitology. – 2017. – Vol. 239. – P. 46–49.*

21. Паразитозы животных в Национальном парке «Припятский» и меры борьбы с ними с использованием IT-технологий : монография / Е. А. Корчевская [и др.]. – Витебск : ВГУ имени П. М. Машерова, 2014. – 42 с.

22. Effectiveness of praziquantel for treatment of peritoneal larval cestodiasis in dogs: A case report / R. Papini [et al.] // *Veterinary Parasitology*. – 2010. – Vol. 170. – P. 158–161.

23. Фармакокинетика аверсектина С и празиквантела в плазме крови собак после однократного подкожного введения препарата Авертел / В. Б. Ястреб [и др.] // *Российский паразитологический журнал*. – 2015. – Вып. 3. – С. 94–101.

24. Всосывание в кровь ивермектина, празиквантела, левамизола и тиаметоксама при нанесении на кожу препарата «Празицид-комплекс» / В. Н. Денисенко [и др.] // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2017. – № 2. – С. 6–15.

УДК 599.365.2:611.4

Федотов Д.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент¹

Кучинский М.П., доктор ветеринарных наук, профессор²

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

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

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ СТРУКТУР ЭНДОКРИННЫХ ЖЕЛЕЗ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КРОВИ БЕЛОГРУДОГО ЕЖА ПОСЛЕ ГИБЕРНАЦИИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ НОВОГО ВЕТЕРИНАРНОГО ПРЕПАРАТА

Резюме

Впервые проведено морфологическое исследование эндокринных желез и биохимическое исследование крови восточноевропейского ежа в стрессовый период после гибернации в условиях ареала Беларуси. Доказан профилактический эффект препарата «Кальцемагфосвит» при нарушениях обмена веществ и стрессовых ситуациях у ежей. Профилактика стрессового воздействия при пробуждении после гибернации является одним из главных путей укрепления здоровья ежа.

Summary

The article first studied the morphological study of the endocrine glands and the biochemical study of the blood of an Eastern European hedgehog in the stressful period after hibernation (in the conditions of the Belarus range). The prophylactic effect of the «Calcemagphosvit» drug against metabolic disorders and stressful situations in hedgehogs is proved. Prevention of stressful effects (awakening after hibernation) is one of the main ways to improve the health of the hedgehog.

Поступила в редакцию 11.02.2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

Отсутствие или дефицит пищи в зимний период является главной угрозой для большинства видов млекопитающих северной зоны, однако многие из них имеют механизмы, повышающие выживание в холодном климате [1, 2, 3].

Гибернация является одним из наиболее ярких примеров фенотипической пластичности у млекопитающих, которая позволяет животным выживать в условиях низких температур, недостатка корма и воды. При оцепенении наблюдается сниже-

ние температуры тела и уровня метаболизма, что сопровождается замедлением дыхания, значительным уменьшением потребления кислорода, а также снижением мозгового кровообращения и частоты сердцебиения. Несмотря на ряд физиологических адаптаций к условиям гибернации, период пробуждения сопровождается окислительным стрессом, ассоциированным с колоссальным повышением потребления кислорода [1].

Вещества, входящие в состав нового отечественного препарата «Кальцемагфос-

вит» (бутафосфан, кальций, магний и др.), дают возможность разработки на их основе профилактических средств в виде биологически активных веществ для снятия нарушений метаболических реакций в организме белогрудого ежа при стрессе.

В настоящее время дикие млекопитающие все чаще сталкиваются с различного рода стрессовыми, субэкстремальными и экстремальными факторами. Механизмы и последствия их действия на организм изучены еще очень слабо [4]. Адаптация организма к экстремальным факторам, в частности период гибернации, является одной из актуальнейших медико-биологических проблем.

Несмотря на то, что стресс является приспособительной реакцией организма в ответ на различные внешние и внутренние факторы воздействия, в постнатальном развитии белогрудого ежа достаточно часто внутренних сил и резервов организма не хватает для поддержания гомеостаза и противостояния стрессу. Поэтому возникает вопрос, как помочь организму и смягчить повреждающее действие стресса, то есть осуществить регуляцию стрессового состояния. Нами был создан новый отечественный ветеринарный препарат «Кальцемагфосвит» (свидетельство на товарный знак № 228327, ТУ 600049853.025-2019), который предлагается апробировать на диких животных, в частности на белогрудом еже.

Спячка была зарегистрирована в восьми различных систематических группах млекопитающих: однопроходные, сумчатые, грызуны, летучие мыши, землеройки, насекомоядные, приматы (некоторые лемуры) и хищные (медведи) [6].

Зимоспящие млекопитающие являются природно-адаптированными к дефициту кислорода животными [1, 3, 6]. В настоящей научной статье внимание уделено именно периоду пробуждения после гибернации, так как данное явление менее изучено с точки зрения гистофизиологических механизмов, особенно со стороны эндокринной системы, ввиду того, что гибернация является энергосберегающим состо-

янием, при котором происходит значительное снижение температуры тела (до $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ у белогрудых ежей), позволяющее млекопитающим выживать в неблагоприятных условиях.

Цель работы – изучение применения нового отечественного ветеринарного препарата «Кальцемагфосвит» для профилактики нарушений метаболических реакций организма и структурно-функциональной перестройки эндокринных желез белогрудого ежа при стрессе (период пробуждения после гибернации).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Ежи отлавливались в дикой природе, и были созданы условия для их гибернации в типичном ареале обитания. Эксперимент проводили на половозрелых самцах белогрудого ежа массой 1000–1200 г, содержащихся в условиях природы. Перед гибернацией у ежей был стандартный рацион. Препарат вводили в дозе 0,5 мл на 1 кг массы тела подкожно один раз в течение эксперимента. Животные были разделены на 3 группы: контрольная (интактные животные; $n=3$), 1-я – опытная группа (препарат вводили в период гибернации; $n=5$), 2-я – опытная группа (препарат вводили в первые сутки пробуждения после гибернации; $n=5$). Ежей выводили из эксперимента путем резекции яремной вены под легким эфирным наркозом с соблюдением правил и международных рекомендаций Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986 г.), а также с соблюдением правил проведения работ с использованием экспериментальных животных [5]. Разрешение на изъятие диких животных из среды их обитания № 0000341 и журнал учета изъятых диких животных № 0000660 от 25.11.2019 г. выданы Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь.

Взятие крови у ежей осуществляли под наркозом с соблюдением правил асептики и антисептики из яремной вены в сте-

рильные пробирки. От ежей отбирали щитовидную железу и надпочечник для гистологического исследования. Морфологический материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятым методикам. На санном микротоме изготавливали гистологические срезы толщиной 3–5 мкм, которые окрашивали по двум методам – по Ван-Гизону и по Пирсу. Абсолютные измерения структурных компонентов железы осуществляли при помощи светового микроскопа «Olympus» модели ВХ-41 с цифровой фотокамерой системы «Altra₂₀» и спектрометра HR 800 с использованием программы «Cell-A», проводили фотографирование цветных изображений (разрешение 1400 на 900 пикселей).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В результате проведенных исследований установлено, что после применения препарата во 2-й опытной группе содержание железа в крови увеличилось до $10,45 \pm 3,03$ мкмоль/л, или в 1,69 раза ($p < 0,01$). Концентрация магния в крови ежей контрольной группы равна $0,05 \pm 0,05$ ммоль/л, в 1-й опытной группе – больше в 1,6 раза ($p < 0,05$), во 2-й опытной группе показатель достоверно увеличился в 3,4 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контролем (таблица 1). Следовательно, в период пробуждения после гибернации в организме ежей наблюдается дефицит железа и магния, который легко восполняется после применения препарата «Кальцемагфосвит».

Таблица 1. – Биохимические показатели крови ежа

Показатели	Группа		
	контрольная	1-я опытная	2-я опытная
Железо, мкмоль/л	$6,17 \pm 1,74$	$6,04 \pm 2,11$	$10,45 \pm 3,03^{**}$
Магний, ммоль/л	$0,05 \pm 0,05$	$0,08 \pm 0,06^*$	$0,17 \pm 0,04^{***}$
Тестостерон, нмоль/л	$21,80 \pm 5,26$	$25,40 \pm 7,11$	$33,80 \pm 7,75^*$
Альдостерон, пг/мл	$207,02 \pm 8,33$	$188,25 \pm 12,14$	$114,10 \pm 11,25^{**}$
Кортизол, нмоль/л	$255,40 \pm 13,08$	$213,10 \pm 17,12$	$135,60 \pm 10,29$

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

Уровень тестостерона в крови минимальный в контрольной группе ежей и составляет $21,80 \pm 5,26$ нмоль/л. В 1-й опытной группе достоверных изменений показателя не установлено, а во 2-й опытной группе содержание тестостерона достоверно увеличилось на 35,5 % ($p < 0,05$), что свидетельствует об активации эндокринной функции семенников самцов ежей в период пробуждения. Повышение тестостерона до $33,80 \pm 7,75$ нмоль/л после применения препарата является важным фактором для проявления половой активности и увеличения в дальнейшем популяции вида. После применения препарата во 2-й опытной группе достоверно в 1,81 раза ($p < 0,01$) снизился уровень альдостерона в крови (до $114,10 \pm 11,25$ пг/мл), а кортизола – в 1,88 раза ($p < 0,01$) по сравнению с контролем.

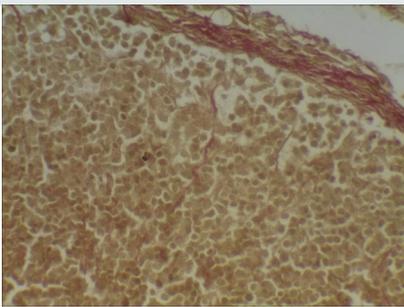
Полученные данные свидетельствуют о снижении стресса и повышении приспособительной реакцией организма белогрудого ежа после гибернации при применении препарата, содержащего бутафосфан.

Общий план строения надпочечников белогрудых ежей в контрольной и двух опытных группах был сохранен. При гистохимическом исследовании надпочечников обнаружены участки утолщения соединительнотканной капсулы, при этом во 2-й опытной группе наблюдается высокое содержание коллагеновых волокон в ее составе. В надпочечниках контрольной группы иногда наблюдается разволокнение капсулы. Клетки соединительнотканной капсулы характеризовались вертикальным, разрозненным расположением. Сосуды

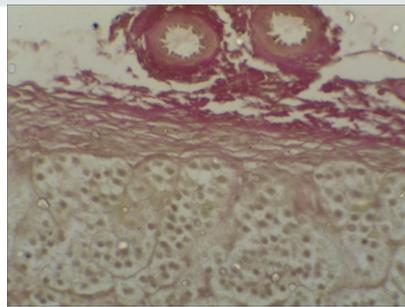
капсулы надпочечника были умеренно полнокровны, в контрольной группе стенки сосудов умеренно отечны (в некоторых полях зрения определялся отек), во 2-й и 3-й опытных группах сосуды капсулы расширены. Во всех исследуемых группах в сосудах капсулы надпочечников эндотелиальные клетки в стенке располагались упорядоченно, местами были вытянуты.

Клубочковая зона коркового вещества надпочечника у ежей контрольной группы местами истончена, местами расширена, но малоклеточная, рыхлая, с пустотами. Клетки данной зоны имеют умеренные дистрофические изменения и не всегда вакуолизированную цитоплазму. Ядра клеток клубочковой зоны имеют сферическую форму. Выявлена часть клеток с пикнотическими ядрами (рисунок 1). Клубочковая зона коркового вещества надпо-

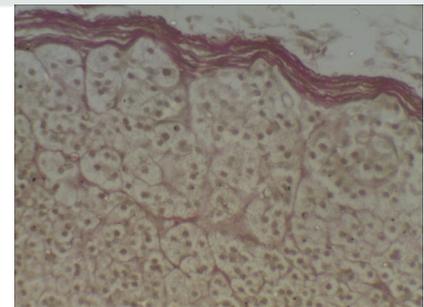
чечника у ежей 1-й опытной группы местами истончена, местами расширена, но компактная и не содержит пустот. Клетки данной зоны имеют вакуолизированную цитоплазму (рисунок 2). Клубочковая зона коркового вещества надпочечника у ежей 2-й опытной группы местами расширена за счет активной пролиферации ее клеток, которые располагаются плотно, формируя типичные клубочки. Цитоплазма клеток хорошо вакуолизирована, местами имеет пенистый вид. Строма этой зоны хорошо различима (по методу Ван-Гизона), представлена тяжами коллагеновых волокон, которые формируют соединительнотканые ячейки, заключающие в себе группы кортикоцитов (рисунок 3). Дистрофических изменений в клубочковой зоне надпочечника у белогрудых ежей опытных групп не выявлено.



Окраска по Ван-Гизону, $\times 100$
Рисунок 1. – Низкое количество коллагеновых волокон в капсуле и деструктивные изменения клубочковой зоны в надпочечнике у ежа контрольной группы



Окраска по Ван-Гизону, $\times 100$
Рисунок 2. – Расширенные сосуды капсулы и пролиферация клеток клубочковой зоны в надпочечнике у ежа 1-й опытной группы



Окраска по Ван-Гизону, $\times 100$
Рисунок 3 – Высокое содержание коллагеновых волокон в капсуле и расширение клубочковой зоны за счет активной пролиферации клеток клубочковой зоны в надпочечнике у ежа 2-й опытной группы

Пучковая зона коры надпочечника ежей трех групп построена из радиально направленных эпителиальных тяжей, между которыми залегают тонкие соединительнотканые прослойки, сопровождающие капилляры (таблица 2). Данная зона занимает большой объем в корковом веществе. В пучковой и сетчатой зоне надпочечника ежей контрольной группы преоб-

ладали явления нарушения кровообращения в виде полнокровия синусоидов, очаговых. Ядро клеточных элементов несколько просветлено, довольно крупное, сферической формы. Целостность клеток и их ядер в этой зоне была сохранена. Наиболее расширенные синусоиды пучковой зоны коры надпочечника ежа выявляются во 2-й опытной группе. Для стромы

пучковой зоны (по методу Ван-Гизона) характерно наличие коллагеновых волокон, которые окружают в виде корзиноподобной сеточки каждый спонгиоцит.

Сетчатая зона представлена рядами клеток, расположенными беспорядочно. Контуры клеток отчетливо различимы, ядра округлой или овальной формы располагаются в центре, содержат крупные глыбки хроматина. Во 2-й опытной группе строма сетчатой зоны отчетливо представлена очень тонкой волокнистой рыхлой сеточкой, которая на отдельных участках уплотнена. После применения препарата между клетками сетчатой зоны выявляются многочисленные кровеносные капилляры синусоидного типа. Среди клеток сетчатой зоны могут встречаться хромаффиноциты. Клетки сетчатой зоны коры надпочечника у ежа контрольной и 1-й опытной групп имели слабо вакуолизированную цитоплазму, редко пенистую. Интенсивная вакуолизация цитоплазмы клеток сетчатой зоны в надпо-

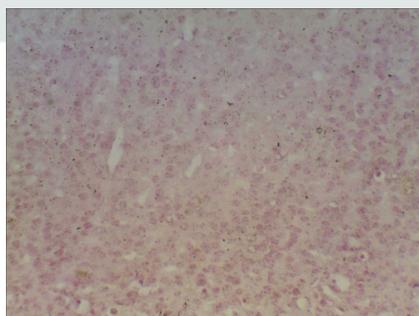
чечнике характерна для ежей 2-й опытной группы.

При окраске гистологических срезов надпочечника по методу Пирса концентрация магния наблюдается в виде темно-синих гранул. В коре надпочечника ежа гранулы магния локализуются непосредственно по всей цитоплазме адренокортикоцитов и в большом количестве в сетчатой зоне (местами во внутренней пучковой зоне). В контрольной группе после гибернации в надпочечнике выявляется низкое содержание магния (рисунок 4). В 1-й опытной группе содержание магния увеличивается в сетчатой зоне и равномерное распределяется в цитоплазме клеток (рисунок 5). Во 2-й опытной группе в сетчатой зоне надпочечника наиболее высокое содержание магния (рисунок 6). Следует отметить, что только во 2-й опытной группе гранулы магния обнаруживаются в мозговом веществе, и только в Н-клетках.



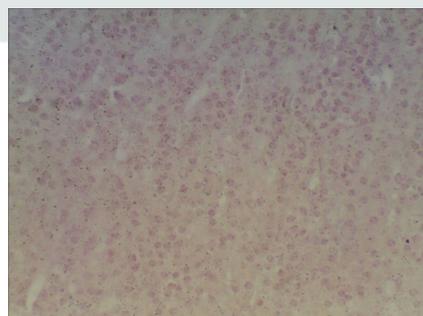
Окраска по методу Пирса,
×100

Рисунок 4. – Низкое содержание магния в клетках сетчатой зоны в надпочечнике у ежа контрольной группы



Окраска по методу Пирса,
×100

Рисунок 5. – Среднее содержание магния в клетках сетчатой зоны в надпочечнике у ежа 1-й опытной группы



Окраска по методу Пирса,
×100

Рисунок 6. – Высокое содержание магния в клетках сетчатой зоны в надпочечнике у ежа 2-й опытной группы

Мозговое вещество имеет хороший соединительнотканый каркас, однако наибольшее количество коллагеновых волокон (окраска по Ван-Гизону) наблюдается во 2-й опытной группе (рисунок 9). Клетки мозгового вещества надпочечника содержали умеренное количество базофильной цитоплазмы, в которой были расположены нормохромные, правильной ок-

руглой или овальной формы ядра. Однако в некоторых полях зрения в мозговом веществе в контрольной (рисунок 7) и 1-й опытной (рисунок 8) группах встречались группы секреторных клеток с пикнотичными ядрами и малым количеством вакуолизированной цитоплазмы.

Во 2-й опытной группе толщина клубочковой зоны достоверно меньше на

23,11 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем ($74,95 \pm 5,99$ мкм) в результате плотного расположения клеток и отсутствия деструктивных изменений в клубочках. Толщина пучковой зоны достоверных изменений во всех исследуемых группах ежей не имеет, однако в 1-й опытной группе показатель максимальный и составляет $100,06 \pm$

$8,11$ мкм. Толщина сетчатой зоны во 2-й опытной группе достоверно больше на $12,56$ % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем и составляет $80,15 \pm 5,01$ мкм. С явлениями гипертрофии коркового вещества надпочечника в контрольной группе наблюдается увеличение толщины мозгового вещества до $104,44 \pm 7,47$ мкм.

Таблица 2. – Морфометрические параметры надпочечника ежа

Показатели	Группа		
	контрольная	1-я опытная	2-я опытная
Толщина клубочковой зоны, мкм	$74,95 \pm 5,99$	$66,08 \pm 7,06$	$57,63 \pm 6,46^*$
Толщина пучковой зоны, мкм	$99,76 \pm 9,28$	$100,06 \pm 8,11$	$98,52 \pm 9,79$
Толщина сетчатой зоны, мкм	$70,08 \pm 6,16$	$74,13 \pm 4,64$	$80,15 \pm 5,01^*$
Толщина коркового вещества, мкм	$244,79 \pm 14,02$	$240,27 \pm 16,07$	$236,30 \pm 15,05$
Толщина мозгового вещества, мкм	$104,44 \pm 7,47$	$99,13 \pm 7,98$	$92,45 \pm 7,21$

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

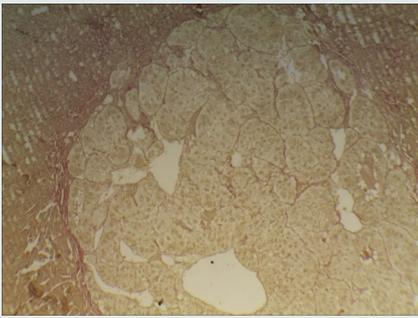
Высота тиреоцитов достоверных изменений не имеет, однако максимальный показатель установлен во 2-й опытной группе и составляет $11,34 \pm 1,03$ мкм. Объем ядер тиреоцитов, как и высота тиреоидного эпителия, достоверно не изменяется, лишь незначительно увеличивается после применения на $8,1$ %. Средний размер фолликулов в щитовидной железе ежей 1-й

опытной группы незначительно увеличивается, а во 2-й опытной группе достоверно снижается на $22,46$ % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем и составляет $39,45 \pm 2,25$ мкм. Индекс Брауна достоверно ниже во 2-й опытной группе в $1,43$ раза ($p < 0,05$), что указывает на повышенную функциональную активность паренхиматозных структур щитовидной железы (таблица 3).

Таблица 3. – Морфометрические параметры щитовидной железы ежа

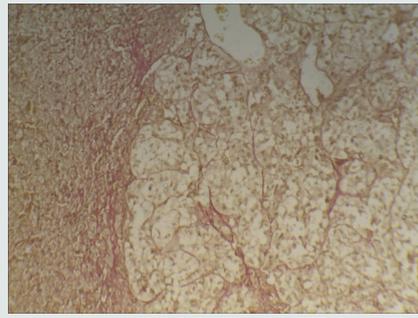
Показатели	Группа		
	контрольная	1-я опытная	2-я опытная
Высота тиреоцитов, мкм	$10,20 \pm 1,29$	$9,77 \pm 1,14$	$11,34 \pm 1,03$
Объем ядер тиреоцитов, мкм ³	$70,38 \pm 4,06$	$68,44 \pm 4,15$	$76,59 \pm 4,21$
Средний размер фолликулов, мкм	$50,88 \pm 3,09$	$54,57 \pm 3,54$	$39,45 \pm 2,25^*$
Индекс Брауна, усл. ед.	$4,99 \pm 0,78$	$5,59 \pm 0,86$	$3,48 \pm 1,06^*$

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



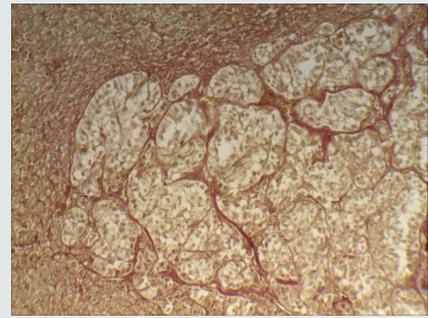
Окраска по Ван-Гизону,
×100

Рисунок 7. – Низкое количество коллагеновых волокон в мозговом веществе и слабая вакуолизация цитоплазмы клеток сетчатой зоны в надпочечнике у ежа контрольной группы



Окраска по Ван-Гизону,
×100

Рисунок 8. – Низкое количество коллагеновых волокон в мозговом веществе и слабая вакуолизация цитоплазмы клеток сетчатой зоны в надпочечнике у ежа 1-й опытной группы



Окраска по Ван-Гизону,
×100

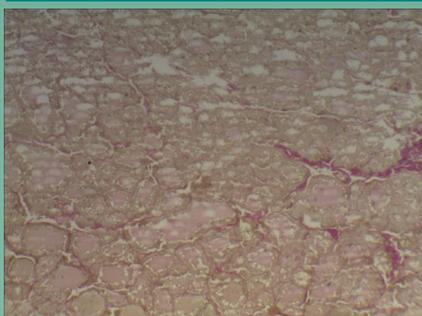
Рисунок 9. – Высокое содержание коллагеновых волокон в мозговом веществе и интенсивная вакуолизация цитоплазмы клеток сетчатой зоны в надпочечнике у ежа 2-й опытной группы

При гистологическом исследовании щитовидной железы ежа установлено, что паренхима органа в контрольной и двух опытных группах представлена всеми классическими структурными элементами. Строму органа представляет капсула и отходящие от нее соединительнотканые перегородки. В паренхиме железы установлена морфология фокальных изменений.

В контрольной и опытных группах фолликулярный эпителий, выстилающий внутреннюю поверхность фолликулов, довольно крупный, высокий, кубической или цилиндрической формы. Цитоплазма клеток набухшая, ядра увеличены в размерах, неправильного овального вида, интенсивно окрашены гематоксилином. В части фолликулов видны многочисленные тиреоциты с резко просветленной цитоплазмой, почти неразличимой, на фоне которой видны хорошо окрашенные гематоксилином ядра. Создается впечатление так называемых «голых» ядер. В ядрах видны мелкие, довольно многочисленные глыбки хроматина. Цитоплазма клеток мелкозернистого вида, с мелкими овального вида вакуолями в апикальных участках тиреоцитов. В части фолликулов выражена митотическая активность клеток.

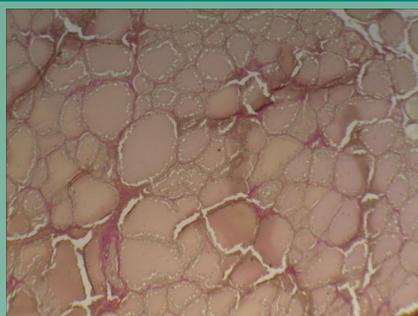
В контрольной группе наблюдаются очаги десквамации тиреоидного эпителия

(в основном в центре долей), часть фолликулов с застоявшимся коллоидом в щитовидной железе (рисунок 10). Процессы десквамации эпителия и коллапс фолликулов, сопровождающий усиленную резорбцию коллоида и выраженное полнокровие перифолликулярных капилляров, служат дополнительными факторами, способствующими слущиванию эпителия. Часть этих слущенных клеток лизируется и резорбируется. Основная же масса десквамированных клеток жизнеспособна. Таким образом, сущность перестройки желез обычного фолликулярного строения в железы переходного и десквамативного типов заключается в крайнем усилении процессов резорбции и протеолитического гидролиза тиреоглобулина, обеспечивающих высокий уровень высвобождения тиреоидных гормонов и поступления их в кровоток. Следовательно, щитовидные железы ежей контрольной группы с очагами десквамации фолликулярного эпителия (переходный и десквамативный структурные типы) являются морфологическим выражением последовательного повышения функционального напряжения железы в период самой гибернации. При этом десквамативный тип представляет крайнее повышение такого напряжения, когда запасы гормонов (внутрифолликулярный коллоид) почти полностью исчерпываются.



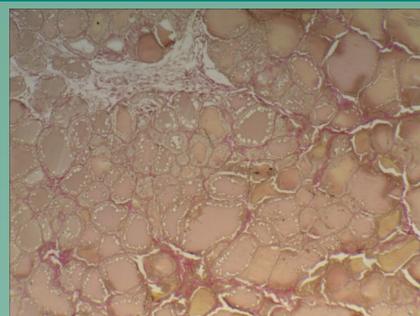
Окраска по Ван-Гизону,
×100

Рисунок 10. – Десквамация тиреоидного эпителия, часть фолликулов с застоявшимся коллоидом в щитовидной железе у ежа контрольной группы



Окраска по Ван-Гизону,
×100

Рисунок 11. – Преобладание крупных и средних фолликулов в щитовидной железе у ежа 1-й опытной группы



Окраска по Ван-Гизону,
×100

Рисунок 12. – Преобладание мелких и средних фолликулов с активной резорбцией коллоида в щитовидной железе у ежа 2-й опытной группы

В щитовидной железе ежей 1-й опытной группы (рисунок 11) наблюдается преобладание крупных и средних фолликулов, 2-й опытной группы (рисунок 12) – преобладание мелких и средних фолликулов с активной резорбцией коллоида. Этот морфологический признак имеет важное значение для диагностики и свидетельствует об активности щитовидной железы – состоянии коллоида, продукта, вырабатываемого и секретируемого тиреоцитами. Во 2-й опытной группе отмечается краевая вакуолизация коллоида. Вакуоли разной величины от мелких до довольно крупных. Местами весь коллоид как бы пронизан многочисленными небольшими вакуолями, из-за чего приобретает сетчатый или пенистый вид. Наличие краевой вакуолизации коллоида относится к несомненным признакам, характеризующим функциональную активность щитовидной железы во 2-й опытной группе ежей после применения ветеринарного препарата «Кальцемагфосвит».

При исследовании эпителиального компонента щитовидной железы ежей 2-й опытной группы обращает на себя внимание увеличение высоты и числа клеток фолликулярного эпителия, выстилающих просветы большей части фолликулов. Увеличение высоты и размеров тиреоцитов вызывает уменьшение просвета фолликулов

и, следовательно, уменьшение коллоидного содержимого. Количество эпителиальных клеток, выстилающих стенку фолликула, увеличено, что приводит к образованию небольших эпителиальных выростов в виде холмиков в просвете фолликулов. Эти признаки свидетельствуют о том, что увеличивается функционирующая поверхность фолликула, а это может говорить о высокой функциональной активности щитовидной железы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гибернация оказывает генерализованное действие на организм, вызывая общую адаптационную реакцию, которая проявляется в комплексе биохимических и морфофункциональных изменений. На применение препарата «Кальцемагфосвит» в период пробуждения от зимней спячки (стресс-фактор) организм белогрудого ежа отвечает рядом сложных морфофизиологических реакций, направленных на поддержание адаптационных сил за счёт активирования гистоструктур желез внутренней секреции, в числе которых важное место занимают надпочечники и щитовидная железа. Таким образом, выявленные морфофункциональные изменения щитовидной железы свидетельствуют о ее повышенной функциональной активности в период гибернации. Следовательно, данный морфологиче-

ский признак говорит о функциональном возбуждении щитовидной железы при воздействии такого стрессующего раздражителя, каким является низкая температура окружающей среды. Для паренхимы надпочечников белогрудого ежа характерны довольно высокие пластические процессы, которые отвечают на любое напряжение организма, в том числе и пробуждение после спячки, увеличением числа секреторных клеток, что и является следствием высокой функциональной активности органа. Компоненты, входящие в состав

препарата «Кальцемагфосвит», способствуют снижению гормональной активности клеток в надпочечнике при гипертрофии коры в ответ на стресс-фактор.

Кальцемагфосвит может использоваться как препарат, обладающий стресс-протекторным действием. Профилактика стрессового воздействия при пробуждении после гибернации является одним из главных путей укрепления здоровья белогрудого ежа, направленных на повышение биологического долголетия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова, Е. П. Антиоксидантная защита у зимоспящих млекопитающих / Е. П. Антонова, В. А. Илюха, С. Н. Сергина // Принципы экологии. – 2015. – № 2. – С. 4–20.
2. Витер, В. И. Экспертная оценка изменений щитовидной железы при гипотермии / В. И. Витер, Ю. С. Степанян // Проблемы экспертизы в медицине. – 2006. – Т. 16, № 1-2. – С. 28–29.
3. Содержание ретинола и α -токоферола у летучих мышей в период гибернации / Т. Н. Ильина [и др.] // Труды Карельского научного центра РАН. – 2017. – № 5. – С. 79–88.
4. Фармакологические способы профилактики стресс-индуцированных состояний в эксперименте / Т. И. Французова [и др.] // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2010. – № 4 (16). – С. 26–35.
5. Этическая экспертиза биомедицинских исследований: практ. рекомендации ; под ред. Ю. Б. Белоусова. – М. : Изд-во ОКИ, 2005. – 156 с.
6. Geiser, F. Metabolic rate and body temperature reduction during hibernation and daily torpor / F. Geiser // Annu. Rev. Physiol. – 2004. – Vol. 66. – P. 239–274.

КАЛЬЦЕМАГФОСВИТ

**ПРЕПАРАТ
ВЕТЕРИНАРНЫЙ**

Содержит кальций, магний и вспомогательные вещества: бутосфан, глюкозу, кислоту аскорбиновую, кислоту борную и др.

Применяют в качестве лечебно-профилактического средства крупному рогатому скоту при родильном парезе, послеродовом залеживании, задержании последа, нарушениях минерального обмена, а также как антитоксическое и антиаллергическое средство

WWW.BIEVM.BY

Журов Д.О., ассистент

Жуков А.И., кандидат ветеринарных наук, доцент

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

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА НЕФРОЗОВ ЖИВОТНЫХ

Резюме

В работе приводятся данные по патоморфологии наиболее часто встречающихся нефрозов у животных. Дано описание макроскопического и микроскопического проявления данной патологии.

Summary

The paper presents data on the most common pathomorphology nephrosis in animals. A description of state at the macroscopic kidney nephrosis and microscopic manifestations of this disease.

Поступила в редакцию 23.03.2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

Почки как центральный орган мочевыделительной системы обеспечивают удаление излишков воды и солей и тем самым поддерживают оптимальное осмотическое давление в крови и тканях тела, выводят токсические вещества как эндо-, так и экзогенного происхождения, в том числе продуктов азотистого обмена, и выполняют ряд других жизненно важных функций [1, 7, 8, 10–13].

Самыми частыми патоморфологическими процессами, встречающимися в почках при вскрытии трупов животных и птиц, являются нефрозы.

Нефрозы – сборное название патологии почек невоспалительного характера, сопровождающейся деструктивными изменениями в почечных клубочках и канальцах. Причинами нефрозов являются белковый перекорм животных (особенно концентратными кормами), различные яды растительного и животного происхождения, а также инфекционные (бактериальные и вирусные), инвазионные и внутренние незаразные заболевания.

В работе приведено описание основных видов нефрозов, выявляемых при вскрытии трупов животных и птиц. **Цель работы** – обнаружение и описание измене-

ний дистрофического характера в почках животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнялась в условиях секционного зала кафедры патологической анатомии и гистологии УО ВГАВМ на трупах животных различных видов, доставленных для проведения вскрытия и установления причин падежа. При вскрытии трупов животных и описании органов пользовались общепринятыми в патанатомии схемами.

Для гистологического исследования отбирались кусочки почек, которые фиксировались в 10%-ном формалине, а также в 96%-ном этиловом спирте. Зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике [6]. Обезвоживание и парафинирование кусочков органов проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей «MICROM STP 120» (Германия) типа «Карусель». Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию «MICROM EC 350». Гистологические срезы кусочков органов, залитых в парафин, готовили на роторном (маятниковом) мик-

ротоме «MICROM HM 340 E». Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилин-эозином [5]. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции «MICROM HMS 70».

Гистологические исследования проводили с помощью светового микроскопа «Биомед-6». Полученные данные документированы микрофотографированием с использованием цифровой системы считывания и ввода видеоизображения «ДСМ-510», а также программного обеспечения по вводу и предобработке изображения «Score Photo».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

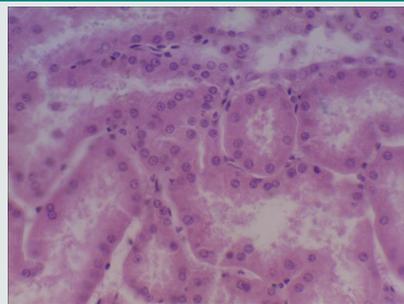
Выделяют несколько групп дистрофий (нефроз) у животных:

- белковые клеточные (зернистая, гиалиново-капельная, вакуольная);
- белковые внеклеточные (гиалиноз, амилоидоз почек);
- белковые смешанные (мочекислый диатез, мочекислые инфаркты);
- жировые (жировая декомпозиция);
- некротический нефроз.

Макроскопически почка при зернистой дистрофии увеличена в размере, форма не изменена, консистенция дряблая, цвет серо-коричневый, граница между корковым и мозговым веществом сглажена.

При гистологическом исследовании находят отложения гранул белка розового цвета в цитоплазме клеток. Эпителиальные клетки набухшие, просветы канальцев и трубок сужены. При обработке гистологических срезов уксусной кислотой зернистость исчезает. При разрыве некоторых клеток цитоплазма изливается в просвет канальца [2, 8, 11], отчего при жизни у больных животных выявляется протеинурия (наличие белка в моче). В дальнейшем процесс может переходить в гиалиново-капельную дистрофию почек с развитием некротического нефроза (рисунок 1).

Гиалиново-капельная дистрофия почек проявляется образованием в цитоплазме клеток канальцев белковых гранул, отделенно напоминающих гиалиновый хрящ.

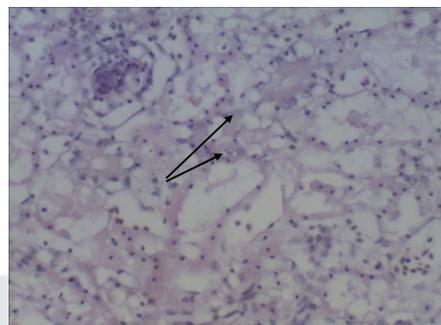


Гематоксилин-эозин. Биомед-6.
Микрофото, ×480

Рисунок 1. – Зернистая дистрофия почки теленка

Внешний вид органа определяется основным процессом, на фоне которого развился этот вид дистрофии (гломерулит, жировая дистрофия и т. д.). При гистологическом исследовании в цитоплазме обнаруживаются полупрозрачные зерна белка, величина которых иногда сопоставима с величиной ядер эпителиальных клеток. Сами ядра в состоянии пикноза и лизиса, зерна не растворяются уксусной кислотой, поэтому данный процесс необратимый. Оболочки некоторых клеток разрываются, и цитоплазма вместе с содержимым изливается в просветы канальцев. В моче животных с такой патологией выявляются гиалиновые цилиндры.

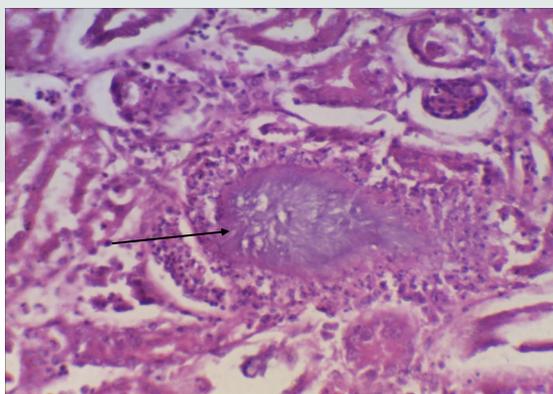
Вакуольная дистрофия почек проявляется образованием в цитоплазме эпителиальных клеток полостей, заполненных жидкостью. Клетки увеличены, цитоплазма имеет губчатый вид, а просветы канальцев резко сужены. Ядро клетки может быть вакуолизировано. Процесс заканчивается гибелью клетки (рисунок 2).



Гематоксилин-эозин. Биомед-6.
Микрофото, ×480

Рисунок 2. – Почка курицы. Вакуольная дистрофия эпителия канальцев, склероз клубочка

При висцеральной форме мочекишлого диатеза почки птиц увеличены в размере, форма их не изменена (иногда напоминает форму малины или тутовой ягоды), консистенция уплотнена, цвет серо-розовый, на поверхности и на разрезе встречаются многочисленные белые очажки (песчинки) – отложение мочекишлых солей [3, 4, 9, 14]. При гистологическом исследовании в полости канальцев и сосудистых клубочков находят отложение кристаллов мочекишлых солей – моноурата натрия и кальция, окрашенных гематоксилин-эозином в розовый и голубоватый цвет соответственно (рисунок 3).



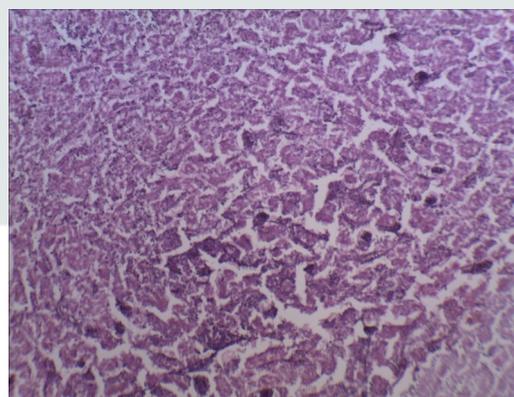
Гематоксилин-эозин. Биомед-6.
Микрофото, ×240

Рисунок 3. – Отложение мочекишлых солей при подагре в почках у курицы

У новорожденных животных в мозговом веществе органа иногда обнаруживают очаги различной величины продолговатой или неправильной формы серо-белого цвета плотной консистенции – мочекишный инфаркт почек. При гистологическом исследовании в почечных канальцах и интерстиции органа обнаруживают отложение кристаллов мочевой кислоты и ее солей, а также некроз канальцев. Обширные поражения вызывают развитие почечной недостаточности у новорожденных.

Некротический нефроз характеризуется неравномерными некробиотическими и некротическими изменениями в эпителии почечных канальцев (рисунок 4). Макроскопически почки увеличены, капсула снимается легко, имеет бледно-сероватую или неравномерную серо-коричневую окраску,

консистенция сильно размягчена, паренхима легко рвется, границы коркового и мозгового вещества на разрезе почек стусеваны. Извитые канальцы поражаются избирательно. Типичный некротический нефроз наблюдают при отравлении минеральными удобрениями, солями тяжелых металлов, репродуктивно-респираторном синдроме у свиноматок, инфекционной бурсальной болезни у цыплят. У ягнят при клостридиозах развивается тотальный некроз почек с резким их размягчением (консистенция органа становится студневидной).



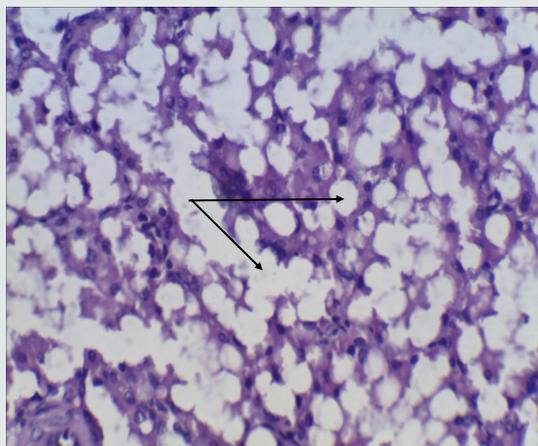
Гематоксилин-эозин. Биомед-6.
Микрофото, ×240

Рисунок 4. – Некротический нефроз у цыпленка

При липоидном нефрозе (жировой дистрофии почек) почки увеличены в объеме, форма не изменена, окраска серовато-желтая, консистенция почек дряблая, граница между корковым и мозговым веществом сглажена. Под микроскопом (при окраске суданом-3) жир в виде капелек обнаруживают в эпителии мочевых канальцев почек, в основном в базальной части клеток, ядра в состоянии пикноза и лизиса. В просвете канальцев обнаруживают капли жира, попавшего туда при разрушении пораженных клеток. При окраске гематоксилин-эозином жир из клеток вымывается и в цитоплазме выявляются различного размера вакуоли. Ядра клеток находятся в состоянии пикноза и лизиса (рисунок 5).

Амилоидный нефроз характеризуется преимущественным поражением сосу-

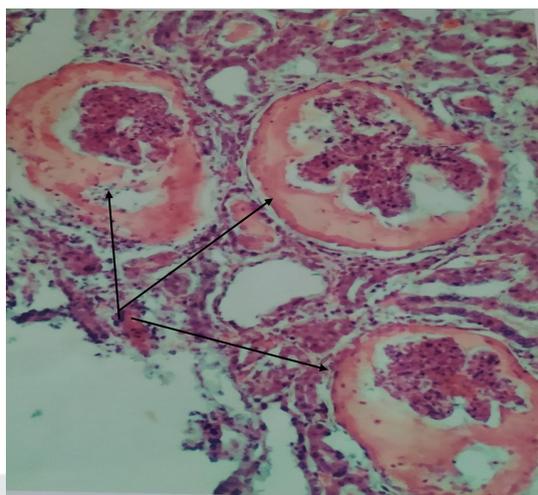
дистых клубочков. Макроскопически изменения видны только при сильном поражении почек. Сосудистые клубочки на разрезе выступают в виде сероватых полупрозрачных крапинок в корковом веществе, удаленных друг от друга на одинаковом расстоянии.



Гематоксилин-эозин. Биомед-6.
Микрофото, ×480

**Рисунок 5. – Почка свиньи.
Жировая дистрофия**

При диффузной форме амилоидоза почки увеличены в объеме, плотной консистенции, влажные, бледно-желтого цвета, поверхность разреза имеет сальный блеск (большая сальная почка).



Гематоксилин-эозин. Биомед-6.
Микрофото, ×240

**Рисунок 6. – Почка поросенка.
Амилоидоз**

Микроскопически в начальной стадии болезни амилоид откладывается в полости капсулы Шумлянско-Боумана, что приводит к атрофии сосудистого клубочка и нарушению деятельности всего нефрона (рисунок 6).

При длительном течении заболевания капилляры бывают полностью закупорены амилоидом, клубочки сморщиваются и замещаются соединительной тканью. Отмечаются пикноз ядер, зернистость и вакуолизация протоплазмы эпителия канальцев. Канальцы заполнены цилиндрами.

Гиалиноз почек – процесс, который редко встречается в почках животных и характеризуется иммунологической реакцией в сосудах клубочка, когда нарушается состав белковых компонентов крови и в стенках сосудов начинают откладываться альбумины, глобулины и липоидные массы. Просвет сосуда клубочка оказывается со временем закрыт гомогенной гиалиновой структурой, в просветах канальцев образуются гиалиновые цилиндры. Почки при этом увеличены в размере, уплотнены, форма не изменена, цвет светлый, поверхность неровная, на поверхности и на разрезе в корковом веществе обнаруживаются серые зерна – увеличенные гиалинизированные сосудистые клубочки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, макроскопические изменения в почках при различных видах нефрозов могут существенно не отличаться друг от друга: орган увеличен в размере, консистенция чаще становится мягкой, граница между корковым и мозговым веществом стирается. При этом в органе при каждом виде дистрофии происходят принципиально различные процессы, приводящие к почечной недостаточности, а иногда и к летальному исходу. Следовательно, гистологическое исследование играет важнейшую роль в проведении дифференциальной диагностики данных процессов и в установлении окончательного диагноза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вандер, А. Физиология почек : пер. с англ. / А. Вандер ; ред. Ю. В. Наточин. – 5-е междунар. изд. – СПб., 2000. – 256 с.
2. Жуков, А. И. Патологическая анатомия органов животных : практические рекомендации для ветеринарных специалистов Республики Беларусь / А. И. Жуков, М. П. Кучинский, Д. Н. Федотов. – Минск, 2017. – 114 с.
3. Журов, Д. О. Особенности гистологических изменений в почках кур при мочекаменной болезни / Д. О. Журов // *Аграрная наука – сельскому хозяйству* : сб. статей X Междунар. науч.-практ. конф. (4-5 февраля 2015 г.) : в 3 кн. – Барнаул : РИО АГАУ, 2015. – Кн. 3. – С. 244–246.
4. Журов, Д. О. Структурные изменения в почках кур при подагре / Д. О. Журов // *Аграрная наука – сельскому хозяйству* : сб. статей X Междунар. науч.-практ. конф. (4-5 февраля 2015 г.) : в 3 кн. – Барнаул : РИО АГАУ, 2015. – Кн. 3. – С. 246–248.
5. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли ; под ред. В. В. Португалова ; пер. с англ. И. Б. Краснов [и др.]. – М. : Мир, 1969. – С. 577–592.
6. Меркулов, Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – Л. : Медицина, 1969. – 432 с.
7. Михневич, А. В. Патология почек речного бобра (*Castor fiber L.*), обитающего в условиях естественной экосистемы (частный случай) / А. В. Михневич, В. А. Занько ; науч. рук. А. И. Жуков, Д. О. Журов // *Студенты – науке и практике АПК : материалы 104-й Междунар. науч.-практ. конф. студентов и магистрантов, Витебск, 23 мая 2019 г. / УО ВГАВМ ; редкол. : Н. И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]*. – Витебск, ВГАВМ, 2019. – С. 176–177.
8. Патологическая анатомия сельскохозяйственных животных : практикум для студентов учреждений высшего образования по специальности «Ветеринарная медицина» / В. С. Прудников [и др.]. – Минск : ИВЦ Минфина, 2018. – 384 с.
9. Патоморфологические изменения в почках кур при ассоциативном течении подагры и мочекаменной болезни на фоне кормового токсикоза / Д. О. Журов [и др.] // *Животноводство и ветеринарная медицина*. – 2014. – № 4 (15). – С. 51–56.
10. Петров, К. Ю. Нефропатия у рептилий / К. Ю. Петров // *Молодежь и наука*. – 2017. – № 3. – С. 42.
11. Прудников, В. С. Патологическая анатомия животных / В. С. Прудников, Б. Л. Белкин, А. И. Жуков. – Минск : ИВЦ Минфина, 2016. – 552 с.
12. Сайко, С. Г. Патологоанатомические изменения при некротическом нефрозе у ягуара / С. Г. Сайко, Л. А. Рабовская // *Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных* : материалы 18-й Междунар. науч.-метод. конф. по патологической анатомии животных / Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К. И. Скрябина. – М. : МГАВМиБ им. К. И. Скрябина, 2014. – С. 182–183.
13. Физиология почки и водно-солевого обмена : симпозиум, посвященный 100-летию А. Н. Гиннецкого : тезисы докладов 13–15 июня 1995 г. / Российская академия наук, Научный совет РАН по физиологическим наукам, Сибирское отделение Российской академии медицинских наук, Институт цитологии и генетики Российской академии наук. – Новосибирск, 1995. – 104 с.
14. Zhurov, D. Pathomorphogenesis of urolithiasis at hens / D. Zhurov // *The Youth of the 21st Century : Education, Science, Innovations: Materials of the International Conference for Students, Postgraduates and Young Scientists*. – Vitebsk : December 4, 2014 / Vitebsk State University ; Editorial board. : I. M. Prischepa (editor in chief) [and others.]. – Vitebsk : VSU named after P. M. Masherov, 2014. – P. 109–110.

Казакова Е.Ф., биолог
Ган Е.А., ведущий ветеринарный врач
Костюк Н.И., кандидат ветеринарных наук
Бурко А.Н., научный сотрудник
Барсукова М.В., лаборант 1 категории

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

МЕТОДЫ, АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТАМ НА ЖИВОТНЫХ, В НАУЧНОЙ И ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКЕ (ОБЗОР)

Резюме

*В настоящей статье дан обзор методов исследований *in vitro*, альтернативных экспериментам *in vivo*. Рассмотрены проблемы опытов на животных. Показано, что в настоящее время альтернативные методы широко используются в научной практике для определения токсичности веществ.*

Summary

*This article provides an overview of *in vitro* research methods that are alternative to *in vivo* experiments. The problems of animal experiments are considered. It is shown that alternative methods are widely used in scientific practice to determine the toxicity of substances.*

Поступила в редакцию 11.05.2020 г.

Опыты над животными – возможно, один из самых спорных вопросов современной науки. Ежегодно в мире более 100 млн жизней лабораторных животных уносят болезненные эксперименты. Долгое время такие исследования считались единственным источником получения знаний в биологии, медицине, ветеринарии, косметической промышленности. Но из-за анатомо-физиологических различий человека и животных тестирование лекарств и новых методов лечения на животных неэффективно и даже опасно: современная медицина насчитывает до 150 препаратов, прошедших испытания на животных и оказавшихся опасными для человека. Например, результатом использования успокоительного препарата для беременных женщин талидомида стало рождение 10000 детей с отсутствием конечностей и уродствами. До этого препарат успешно прошёл испытания на животных и не показал никакой токсичности [14].

Ученые экспериментируют над братьями нашими меньшими в различных целях, среди которых фундаментальные ис-

следования функционирования организмов, разработка потенциальных методик лечения болезней человека, а также проверка на безопасность и качество лекарств, устройств и других объектов.

История эксперимента в медицине чудовищна. Нельзя без содрогания читать о том, как проводились опыты над животными даже во времена не столь отдаленные. Обезболивающие средства были открыты лишь в 19 веке, до этого животных столетиями сжигали, отравляли, кололи, резали без анестезии [14].

Имя физиолога К. Бернара известно каждому студенту-медику. Но ни в одном учебнике не описывается методика проведения его опытов по изучению влияния температуры на теплокровных животных, когда обреченных животных (собак, кошек, кроликов, голубей) помещали в печь при температуре плюс 90 ± 100 °С [14].

В лаборатории профессора В.В. Пашутина животному покрывали кожу водонепроницаемым лаком, затем ее сдирали заживо, «дабы не затемнить результаты научного исследования» [14]. Можно

вспомнить и выдающегося русского ученого И.П. Павлова. Множество собак погибло в его лаборатории при постановке различного рода экспериментов. Жестокость своих опытов он оправдывал тем, что «чем полнее будет проделан опыт на животных, тем менее часто больным придется быть в положении опытных объектов, со всеми печальными последствиями этого» [14].

Историю о правовых аспектах использования животных можно начать с 1822 г., когда в Великобритании был принят закон, направленный против жестокого обращения с домашними животными. Великобритания стала первой страной в мире, принявшей такой закон, а в 1824 г. здесь начинает действовать и первое в мире общество по защите животных.

Важнейшими требованиями современного законодательства на любом уровне являются тщательное планирование эксперимента с целью минимизации числа погибших животных, а также использование альтернатив везде, где это возможно. Концепция альтернативных методов известна как «три R»: редукция (*reduction*), или снижение количества животных, используемых в опытах; рафинирование (*refinement*) – улучшение методики с целью облегчения страданий подопытных животных; замена (*replacement*) болезненных для животных экспериментов опытами, не причиняющими страданий. Методика «три R» была описана в книге, опубликованной в 1959 г. W.M.S. Russell и Rex Burch, двумя учеными из Великобритании, под названием «Принципы гуманных экспериментальных методов» («The Principles of Humane Experimental Technique») [14]. Они высказали мнение, что получить достоверные научные результаты можно лишь путем проведения опытов, основанных на гуманном отношении к животным. Они считали необходимым выработать такие методы, чтобы снижать количество используемых животных и, в конечном итоге, полностью заменить их. Так, например, применение правила «три R» на практике ведет и к пересмотру системы обучения в учебных за-

ведениях биомедицинского и ветеринарного профиля. Процесс обучения должен строиться так, чтобы живые животные использовались только в самых необходимых случаях.

Следует учитывать, что опыты на животных обходятся очень дорого. Животных надо закупать, содержать, кормить, за ними надо ухаживать. На это требуется много денег и времени. Поэтому предприятия химической и фармацевтической промышленности, а также учебные заведения крайне заинтересованы в том, чтобы заменить эксперименты на животных альтернативными методами тестирования [1, 2].

Выражение «альтернатива» подразумевает, что исследование на животных заменяется чем-то другим. На самом деле методы исследования без использования животных – это не просто замена: они имеют преимущества перед экспериментами на животных. В научных кругах термин «альтернатива» часто употребляется применительно к методам, которые не заменят опыты на животных [14, 6].

На сегодняшний день учеными всего мира разработано более 500 альтернатив экспериментам на животных. Многие опыты можно ставить, используя биологические модели – бактерии, культуры клеток, а также компьютерное моделирование, интерактивные видеофильмы, манекены лабораторных животных и человека [6]. К сожалению, эти и другие прогрессивные и гораздо более экономичные методы еще не получили должного распространения. По мнению Галины Червонской [13], известного вирусолога, члена комитета по биоэтике РАН, уже сейчас три четверти опытов на животных и в наших лабораториях можно было бы заменить экспериментами с использованием культур клеток: «Эти методы эффективны, точны и требуют меньших финансовых затрат. Более того, альтернативы позволяют выявить токсичность испытываемых препаратов на более глубинном уровне – клеточном, а иногда и субклеточном». Системы *in vitro* реагируют на токсичное воздействие гораздо более точно, чем животные.

Изучение биологической активности веществ, независимо от последующей цели их использования, как правило, на первом этапе предполагает оценку их токсичности.

Для оценки потенциально токсичных биологических и химических веществ в настоящее время широко используют метод клеточной биоиндикации взамен общепринятой модели *in vivo*.

Методы оценки токсичности, альтернативные классическим тестам на экспериментальных животных, а именно модели с использованием культур клеток, находят все более широкое применение в биохимикотоксикологических исследованиях [4, 5, 8].

Определение потенциальной токсичности антигенов возбудителей опасных инфекционных заболеваний *in vitro* на модели перевиваемых клеточных линий – чувствительный, простой в исполнении и информативный тест, который можно использовать на этапах лабораторного анализа различных внеклеточных или ассоциированных с клеточными структурами биополимеров. Установлено, что по чувствительности эти тесты сопоставимы с разрешающей способностью биопробы [7, 9, 13, 15] и позволяют, помимо решения этических проблем, связанных с массовым использованием и гибелью экспериментальных животных, значительно удешевить и сократить сроки предварительного исследования новых химических препаратов, прежде всего на стадии их доклинических испытаний (исследование *in vitro* дает результат по прошествии какого-то количества часов или дней, в то время как исследования на животных могут длиться неделями, месяцами и даже годами). Один из распространенных тестов цитотоксичности *in vitro* – это нейтрально красный анализ. Он проводится на клеточной культуре, причем культура поддерживается в культуральных 96-луночных планшетах. При такой методике опыта можно использовать различные концентрации тестируемого химического вещества, а также обеспечить положительные и отрицательные контрольные группы. Другим относительно

простым анализом цитотоксичности является тест МТТ. Он служит для обнаружения общих цитотоксических соединений, а также агентов, для которых митохондрии являются специфическими мишенями. Измерение активности лактатдегидрогеназы (LDH) также используется как основа различных опытов для определения цитотоксичности. Этот фермент обычно присутствует в цитоплазме живых клеток и выделяется в среду клеточной культуры через протечки в мембранах мертвых или умирающих клеток, поврежденных в результате воздействия токсического агента [13].

Еще одно преимущество моделей *in vitro* заключается в возможности работы непосредственно на культурах клеток человека и животных, что делает полученные данные более адекватными при проекции на организм человека. Кроме того, использование культур клеток позволяет установить характер биологической активности изучаемых соединений непосредственно на клеточном уровне и учесть сложные синергические и разнонаправленные эффекты смесей химических соединений.

При работе с системой *in vitro*, в ходе, например, токсикологических исследований, можно изучать параллельно большое количество фармацевтических препаратов или химических веществ, а в системах, предусматривающих эксперименты на животных, такие возможности ограничены. Альтернативные методы *in vitro* очень надежны, так как работа с клеточными и тканевыми культурами дает хорошо воспроизводимые и четкие результаты, и таким образом можно изучать специфические воздействия исследуемого агента и изменения, возникающие в результате этого воздействия на клеточном уровне. Между тем, при исследованиях на животных оценивают лишь общий процесс, например отравления.

Одним из важнейших преимуществ применения клеточных культур является возможность наблюдения за результатами взаимодействия компонентов сложных антигенных комплексов бактерий с клетками-мишенями и оценки результатов такого

тестирования по изменению морфофункциональных параметров клеток под действием потенциально токсических веществ прижизненно, а не *post factum* [7, 12]. В мире накоплен большой объем информации о преимуществах этих методов как наиболее технологичных, объективных, точных и удовлетворяющих требованиям биоэтики [7].

Одной из альтернатив стала бионическая эпидермальная ткань EPiTRI, созданная учеными из Института индустриально-технологических исследований (ITRI) Тайваня [14]. С помощью EPiTRI можно оценивать коррозирующее и раздражающее действие косметических субстанций на кожу. EPiTRI является абсолютным эквивалентом эпидермального слоя клеток кожи человека. С помощью EPiTRI возможно проводить тестирование косметики и бытовой химии. ITRI также разработал Melano-EPiTRI [14] – это модель кожи человека, клетки которой содержат меланоциты, поэтому Melano-EPiTRI можно использовать для проверки на безопасность средств для загара. EPiTRI – это первые искусственно выращенные клетки кожи, выпущенные в массовое производство на Тайване. Технология поможет производителям разрабатывать новые продукты, соответствующие международным нормам, а также проводить безопасные и гуманные опыты.

Одним из жестоких методов тестирования токсичности на животных является тест Драйзе на раздражение глаз, проводимый на кроликах [12, 16, 17]. Активный поиск альтернативных методов привел к разработке теста HET-CAM, который используется как предварительная стадия к тесту с кроликом [10, 12]. Тест проводят на развивающемся курином эмбрионе, на 10–14-й день развития. На мембрану, пронизанную кровеносными сосудами, наносят вещество. Затем учитывают кровоизлияния и изменения кровеносных сосудов. Изменения физиологии и биохимии клеток в результате воздействия химического вещества можно оценить и на культурах клеток эпителия роговицы глаза человека. В каче-

стве альтернативы исследователи также изучали целые или рассеченные глазные яблоки свиней, крупного рогатого скота и цыплят, полученные на бойнях. Многие конечные точки, измеренные в культурах целых органов, аналогичны тем, что измерены в опытах *in vivo*, например помутнение и опухоль роговицы [10, 17].

Для выявления веществ с сильным раздражающим действием на глаза используют методы на культурах клеток NRU. При методе NRU (выявляет степень повреждения мембраны клеток) используются человеческие эпителиальные клетки, а также клетки мышей (фибробласты 3T3) и кроликов. Существует также анализ, который может прогнозировать повреждение и восстановление роговицы, он подходит и для тестирования продукции для волос. Это метод распространения флуоресценции (модель на основе культуры клеток почки собаки) [3].

В токсикологических исследованиях все шире используются срезы культур высокой точности, которые часто делают из органов животных. При этом для получения нужного органа либо убивают животное, либо используют отходы бойни. Срезы тканей имеют ряд преимуществ по сравнению с системами клеточных культур, которые заключаются в том, что в них присутствуют все виды клеток органа, сохраняя архитектуру *in vivo* и межклеточные коммуникации. Таким образом, исследования *in vitro* могут проводиться для определения вида клетки-мишени внутри органа, а также для изучения токсичности конкретных органов-мишеней. Недостатком срезов является их быстрая дегенерация после первых 24 часов пребывания в культуре. Также используют уплощенные ткани для изучения краткосрочной токсичности, включая раздражение и разъедание кожи, попадания асбеста в трахею и нейротоксичности мозговой ткани [3, 16].

На изолированных органах можно тестировать действие химического вещества или потенциального лекарства. Чтобы получить орган, убивают животных.

Органы сохраняют свою естественную функцию вне организма в течение какого-то времени. Продукты бойни могут использоваться для решения некоторых проблем. Так, на свиных легких можно изучать принципы работы легких, а также влияние загрязнения окружающей среды, курения или наночастиц.

Существует компьютерный метод выявления токсичности химических веществ. Команда американских ученых при помощи данных о химических веществах и их смесях, собранных Европейским химическим агентством, создала базу из 866 тыс. свойств и указаний на токсичность всех проанализированных препаратов (данные были получены в ходе многолетних опытов на животных). На основе расчета коэффициентов сходства ученые научили искусственный интеллект оценивать вероятность опасных свойств химических веществ. Точность такого анализа составляет 87 %, в то время как точность единичного опыта на животных – 57 %, повторного – 81 % [3, 16].

В настоящее время известно, что в основе комплекса защитных реакций клеток, которые обеспечивают адаптацию к меняющимся условиям в ответ на воздействие различных неблагоприятных факторов, в том числе и токсических агентов, лежат единые фундаментальные механизмы, приводящие к сходным изменениям на морфологическом и молекулярном уровнях [11, 7]. Такой универсальный характер стрессовых реакций на клеточном уровне в ответ на разнообразные внешние воздействия делает перспективным применение моделей *in vitro* и стандартных биохимических критериев оценки жизнеспособности и метаболических изменений клеток не только при действии химических препаратов, но и физических (электромагнитных полей различной частоты и интенсивности), а также биологических факторов (вирусов, тканевых жидкостей от больных с различными типами патологии).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Испытания на лабораторных животных – это неотъемлемая часть медицины. Эксперименты на животных очень важны, однако они являются дорогостоящими и трудоемкими, приводят к травмам и гибели подопытных.

Современная наука с помощью альтернативных технологий исследования позволяет сократить и даже свести к минимуму использование подопытных животных в современных доклинических исследованиях и научных испытаниях, что позволяет не только избежать массовой гибели лабораторных животных, но и значительно удешевить и сократить сроки исследований. Одним из альтернативных методов являются опыты на культуре клеток *in vitro*, где возможно использование органов и тканей, полученных из этических источников. Быстрое развитие технологий *in vitro* и их применение для научных целей может заменить использование лабораторных животных. Во всем мире набирает силу движение, направленное на замещение использования животных.

В настоящее время РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» располагает специалистами, обладающими опытом работы и необходимыми знаниями в области культивирования клеток, методами забора биоматериала с целью разработки альтернативных методов технологий *in vitro*. В отделе культур клеток и питательных сред имеется возможность культивировать широкий спектр клеток из разных органов, тканей и видов. Кроме того, использование культур клеток позволяет установить характер биологической активности соединений непосредственно на клеточном уровне, что может также минимизировать проблемы различий между видами.

Клетки *in vitro* являются средством, обеспечивающим дальнейшее развитие в этом направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биоэтика. Альтернативы экспериментам на животных / А. С. Лукьянов [и др.]. – М. : Изд-во МГУ, 1996. – 253 с.
2. Ветеринарно-санитарные правила по приему, уходу и вскрытию подопытных животных в вивариях научно-исследовательских институтов, станция, лаборатория, учебных заведениях, а также питомниках: постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Респ. Беларусь, 21 мая 2010 г., № 36 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://mshp.gov.by/documents/technical-acts/cb5d27ea51a49bea.html>. – Дата доступа: 23.04.2020.
3. Гильдеева, Г. Н. Актуальные проблемы доклинических исследований: переход к альтернативной *In vitro*-токсикологии / Г. Н. Гильдеева. – М., 2017. – С. 17–30.
4. Дмитруха, Н. Н. Культура клеток как *in vitro* модель в токсикологических исследованиях / Н. Н. Дмитруха. – Киев : *Medix anti-aging*, 2013. – № 3 (33). – 168 с.
5. Дядищев, Н. Р. Биологические модели *in vitro* в токсикологии / Н. Р. Дядищев; С. П. Рыбалкин, А. И. Марченко: тезисы докладов 1-го съезда токсикологов России. – М., 1988. – С. 299–302.
6. Еропкин, М. Ю. Культуры клеток как модельная система в биохимико-токсикологических исследованиях: дис. ... д-ра биолог. наук / М. Ю. Еропкин. – СПб., 2004. – 354 с.
7. Еропкин, М. Ю. Модели, альтернативные использованию лабораторных животных в токсикологии. Достижения и проблемы / М. Ю. Еропкин // *Токсикологический вестник*. – 1999. – № 5. – С. 7.
8. Еськов, А. П. Токсикологические испытания. Альтернативные методы / А. П. Еськов // *Токсикологический вестник*. – 2003. – № 5. – С. 25–29.
9. Каркищенко, Н. Н. Классические и альтернативные модели в лекарственной токсикологии / Н. Н. Каркищенко // *Биомедицина*. – 2006. – № 4. – С. 5–23.
10. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. *In vitro* 3T3 NRU тест на фототоксичность: ГОСТ 32372-2013. – Введ. 01.08.14. – М. – С. 4–8.
11. Пименова, Е. В. Разработка метода оценки цитотоксичности антигенов возбудителя мелиоидоза *in vitro* на модели перевиваемых клеточных культур: дис. ... канд. мед. наук / Е. В. Пименова. – Волгоград, 2016. – 18 с.
12. Современные альтернативные методы исследования, используемые для оценки безопасности продукции / Е. В. Зарицкая [и др.] // *Экология человека*. – 2017. – № 3. – С. 2.
13. Червонская, Г. П. Этика медицинского эксперимента в доклинических испытаниях / Г. П. Червонская // *Биоэтика: принципы, правила, проблемы* / отв. ред. и сост. Б. Г. Юдин. – М. : Эдиториал-УРСС, 1998. – 472 с.
14. Яскевич, Я. С. Основы биоэтики: учеб. пособие / Я. С. Яскевич, С. Д. Денисов. – Минск : Вышэйшая школа, 2009. – С. 291–307.
15. Burden, N. *Testing Chemical Safety: What Is Needed to Ensure the Widespread Application of Non-animal Approaches* / N. Burden, F. Sewell, K. Chapman // *PLOS Biology*. – 2015. – Vol. 13(5): e1002156.
16. Glossblatt, N. *Toxicity Testing in the 21st Century: A vision and a Strategy*; ed. : M. Karalic-Loncarevic. – Washington: National Academy Press, 2007. – 196 p.
17. Carbone, Larry. *What Animals Want: Expertise and Advocacy in Laboratory Animal Welfare Policy*. – New York: Oxford University Press, 2004. – 63 p.

Лысенко А.П., доктор ветеринарных наук, профессор¹
Wroхmeyer L., доктор медицины²
Власенко В.В., доктор биологических наук, профессор³
Кучвальский М.В., научный сотрудник¹
Красникова Е.Л., научный сотрудник¹

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

²N. Y. Institute of Medical Research in Bayside, New York, USA

³Винницкий торгово-экономический институт, г. Винница, Украина

ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В ВОЗНИКНОВЕНИИ ОПУХОЛЕЙ

Резюме

Из культуры клеток аденокарциномы шейки матки (HeLa) выделены cell wall deficient (CWD) микобактерии туберкулеза. Изолят демонстрировал «бессмертность» и восстанавливал бактериальную форму после химической инактивации, ультразвукового разрушения, удаления детрита и молекул крупнее 100 kDa, и 3 kDa, давая рост клеток, почти не отличавшихся не только от исходных, но и от CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Изоляты были чувствительны только к фторхинолонам, не вызывали явного заболевания у морских свинок, но индуцировали развитие в органах микрогранулем с кислотоустойчивыми зёрнами. Предполагается, что микобактерии туберкулеза, инфицируя клетки, могут персистировать в них в необычной форме, возможно, интегрируя фрагменты генома в ДНК хозяина и при определенных условиях превращая их в раковые за счет своих необычных свойств.

Summary

Cell wall deficient (CWD) mycobacteria of tuberculosis is isolated from culture of cells of cervical adenocarcinoma (HeLa). The isolate exhibited «immortality» and restored bacterial form after chemical inactivation, ultrasonic destruction, removal of detritus and molecules larger than 100 kDa and 3 kDa, giving growth of cells almost not different not only from initial cells, but also from CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Isolates were sensitive only to fluoroquinolones, did not cause obvious disease in guinea pigs, but induced development in organs of microgranulems with acid-fast grains. It is suggested that mycobacteria of tuberculosis by infecting cells, can persistence in them in an unusual form, possibly integrating fragments of genome into the host DNA and under certain conditions, turning them into cancer at the expense of their unusual properties.

Поступила в редакцию 22.04.2020 г.

В XIX и в первой трети XX века более 90 % людей были инфицированы микобактериями туберкулеза (МБТ), каждая 5–7 смерть связана с туберкулезом [1]. Благодаря санитарным мерам, вакцинации, улучшению социальных условий с 30-х годов XX века заболеваемость туберкулезом начала снижаться (по данным ВОЗ, в последние годы до 2 % в год). Тем не менее, элиминации МБТ из популяции явно не происходит, не менее 30 % населения инфицировано, более 3 млрд привито вакциной BCG (*Mycobacterium bovis*) [2, 3].

Трансплацентарная передача как возбудителя болезни, так и вакцинного штам-

ма [4] способствует поддержанию практически 100%-ного уровня инфицированности. То есть в организме, вероятно, каждого человека персистируют МБТ, чаще в дормантной или в cell wall deficient (в том числе L) формах, не вызывая явного заболевания [5, 6].

На фоне снижения заболеваемости и смертности от туберкулеза, но при сохраняющейся инфицированности, отмечается рост онкологической патологии, от которой погибает более 9 млн человек ежегодно (UN News, 2019). Связь туберкулезной инфекции и рака подозревали еще в XIX веке, наблюдая похожие морфологические

процессы и вызывая туберкулез у морских свинок введением раковых тканей [7, 8]. Хотя в пору пандемии туберкулеза это скорее объяснялось одновременным течением туберкулезной инфекции и онкогенеза.

В первой половине XX века из опухолей и крови больных были выделены частично кислотоустойчивые (ЧКУ) полиморфные фильтрующиеся микроорганизмы, предположительно МБТ с дефектной клеточной стенкой (CWD – cell wall deficient) [9, 10, 11, 12]. Изоляты индуцировали опухоли у мышей [13] и синтезировали аналог хорионического гонадотропина человека, стимулировавший размножение раковых клеток [14]. Китайские исследователи на современном уровне подтвердили определенную связь CWD (L-) форм МБТ с онкогенезом, которые как онкогенные вирусы могли интегрировать фрагменты своего генома в геном человека [15, 16, 17]. Но такие исследования выполнены на клиническом материале, когда трудно исключить одновременное независимое течение патологических процессов. Более определенные сведения о связи туберкулезной инфекции и онкогенеза может дать исследование опухолевых клеток, культивируемых вне организма. В частности, обнаружена персистенция вирусоподобных форм МБТ в культурах клеток почки эмбриона овцы, инфицированных вирусом бычьего лейкоза (FLK-BLV), миелобластов больного миелоидным лейкозом (Kasumi-1) и Т-лимфоцитов человека с Т-лимфобластной лейкемией (Jurkat) [18, 19, 20]. В связи с этим **целью** исследований было изучение культуры клеток аденокарциномы шейки матки (HeLa) с использованием методов культивирования CWD МБТ.

Дизайн экспериментов. I этап – выявление в клетках HeLa антигенов, реагирующих с антителами к *M. tuberculosis*.

II этап – разрушение клеток HeLa, инкубация лизата со стимулятором роста, посев на питательную среду, проведение «слепых» пересевов.

III этап – культивирование изолята из клеток HeLa, изучение морфологии, идентификация в ПЦР.

IV этап – ультразвуковая дезинтеграция изолята, ультрафильтрация сониката через Amicon Ultracel® 100 К и 3 К, стерилизация ультрафильтратов фильтрацией через фильтры 0,22 м.

V этап – инкубация ультрафильтратов 100 К и 3К со стимулятором роста, посев на питательную среду, проведение «слепых» пересевов.

VI этап – культивирование изолятов из ультрафильтратов, изучение морфологии, идентификация в ПЦР, определение лекарственной устойчивости.

VII этап – получение соникатов изолятов из ультрафильтратов, исследование антигенного состава.

VIII этап – заражение изолятами морских свинок, исследование патологического материала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Культура клеток HeLa (коллекция культур клеток БГУ, Минск) выращена на среде 199 с 10 % фетальной бычьей сыворотки (FBS).

Микроскопия. На стекла наносили 75–100 мкл суспензии клеток HeLa (или изолятов) и 30 мкл 3 % H₂O₂ для инактивации эндогенной пероксидазы (ЭП). Мазки фиксировали (65 °С) и окрашивали по Kinyoun или дифференцирующим иммунопероксидазным методом (ДИП), включавшим окраску по Kinyoun, инкубацию с конъюгатом пероксидазы и аффинноочищенных антител к *M. tuberculosis* H₃₇Rv, обработку раствором 3,3'-диаминобензидина с H₂O₂. Метод обеспечивал окрашивание кислотоустойчивых (КУ) клеток в красный, некислотоустойчивых (НКУ) CWD МБТ – в коричневый, а немикобактериальной микрофлоры и тканей – в синий цвет. Результаты учитывали, если в контрольных мазках, окрашенных по Kinyoun и обработанных раствором 3,3'-диаминобензидина с H₂O₂, все объекты были синего (сине-зеленого) цвета, что указывало на инактивацию ЭП [21]. Микроскопию проводили на Olympus B51X, 10×100.

Для посева лизатат клеток HeLa смешивали 1:2 со стимулятором роста ВКГ

(патент Украины № 43467), выдерживали 48 ч при температуре 37 °С и по 0,3 мл вносили в пробирки со средой MucCel DW (включавшей агар, аспарагин, пептон, триптон, крахмал, железо лимоннокислое аммиачное, CaCl₂, MgSO₄, KH₂PO₄, Na₂HPO₄, ZnSO₄). Посевы инкубировали при температуре 37 °С. Контролем служили посевы стимулятора роста с FBS (2:1), использовавшейся для культуры клеток HeLa.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Изоляты (0,2–0,5 мг/мл) прогревали 5 мин (95 °С) в лизирующем буфере. ДНК выделяли на колонках с сорбентом (ИБОХ НАНБ). Амплификацию проводили на C1000™ ThermoCycler (BioRad) с праймерами 16S RNA, MPB 70, MPB 64 («Праймтех»). Результаты электрофореза амплификатов учитывали на GelDoc™ XR+ (BioRad). ПЦР – real time проводили с праймерами IS 6110 («Праймтех»).

Приготовление соникатов. Изоляты выращивали на среде MucCel DW. Бактериальную массу отмывали 1%-ным раствором фенола и дезинтегрировали на Vandelin Sonopuls 2400 (3 цикла 8х по 5 мин).

Ультрафильтрация сониката изолята из лизата клеток HeLa и посев ультрафильтратов. Соникат центрифугировали 4 мин при 17000g, надосадочную жидкость фильтровали через Amicon Ultracel® 100 К и 3 К. Предварительно ультрафильтры стерилизовали 0,1N раствором NaOH и отмывали стерильной водой. Целостность ультрафильтров проверяли сразу после ультрафильтрации с использованием IgG крупного рогатого скота (для 100К) и пероксидазы хрена (для 3К) [22].

Ультрафильтраты стерилизовали фильтрацией через Millex® GP 0.22 µm, смешивали 1:2 со стимулятором роста, выдерживали 48 ч при температуре 37 °С и по 0,3 мл вносили в пробирки со средой MucCel DW. Посевы инкубировали при температуре 37 °С. Во всех случаях посева на среду MucCel DW при отсутствии роста колоний делали «слепые» пересевы.

Антисыворотки получали гипериммунизацией кроликов соникатами инактивированной 1%-ным фенолом бактериальной массы *M. tuberculosis* H₃₇Rv, «Is HeLa is 6, Is HeLa 100 kDa+0.22», «Is HeLa 3 kDa+0.22» (5-кратно подкожно по 1–1,4 мг в 1,5 мл ISA 70, через 12–14 дней).

Реакцию иммунодиффузии (РИД), перекрестный иммуноэлектрофорез с промежуточным гелем (ПИЭФ ПГ), ракетный иммуноэлектрофорез (РИЭФ) ставили по N.Axelsen, J. Kroll, B. Weeke (1977). Антигенный состав изолятов изучали в сравнении составом соникатов CWD штаммов *M. tuberculosis* H₃₇Rv.

Лекарственную устойчивость изолятов изучали в диффузионном тесте на среде MucCel DW, используя стандартные диски с антибиотиками (НИЦФ).

Определение патогенности изолятов. Морским свинкам вводили подкожно по 2 мг бактериальной массы изолятов в 0,5 мл стерильного минерального масла.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При ДИП окраске клетки HeLa и их ядра окрашивались в коричневый цвет, то есть в них были антигены, связывающие антитела к антигенам *M. tuberculosis* (рисунок 1b).

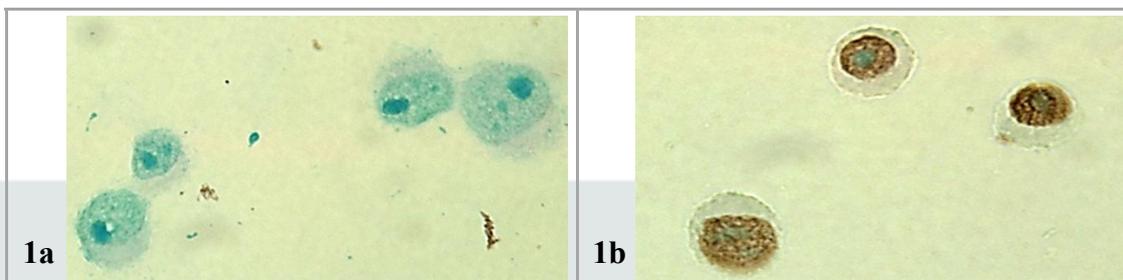


Рисунок 1. – ДИП окраска клеток HeLa: 1a – клетки зелено-голубого цвета (полная инактивация ЭП); 1b – ДИП окраска с использованием антител к *M. tuberculosis* (клетки коричневого цвета)

После посева инкубированного в стимуляторе роста лизата клеток HeLa через 2 суток появились мелкие стекловидные образования. С каждым «слепым» пересевом их количество возрастало. В мазках из пробирки 6 «слепого» пересева обнаружена НКУ и ЧКУ зернистость (рисунок 2а), а также единичные палочковидные формы (рисунок 2b). После их пересе-

ва начался рост («Is HeLa is 6») типичных колоний полиморфных палочковидных форм и «пустых» клеток с «хвостом» (рисунок 3), который исчезал при пересевах изолята (рисунок 4). У части клеток обнаруживались ЧКУ или КУ элементы (рисунок 4). При ДИП окраске клетки связывали антитела к антигенам *M. tuberculosis* и окрашивались в коричневый цвет (рисунок 3).

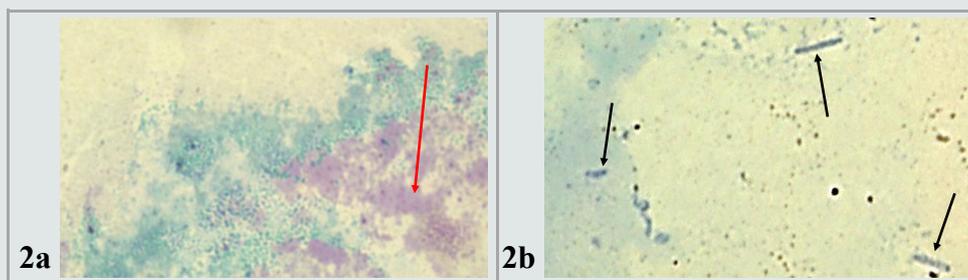


Рисунок 2. – Рост «Is HeLa is 6» в 6 «слепом» пассаже посева клеток HeLa: 2а – НКУ и ЧКУ зернистость (красная стрелка); 2b – зернистые палочки

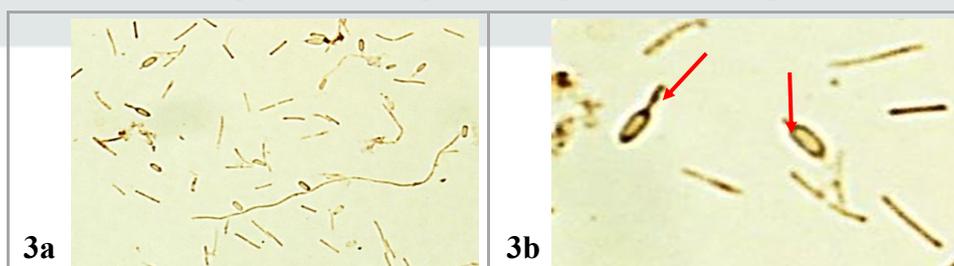


Рисунок 3. – Первичный рост «IsHeLa is 6»: 3а – Полиморфные палочковидные формы и «пустые» клетки с «хвостом» (стрелки); 3b – увеличено (10x100+25 %), ДИП окраска (клетки коричневого цвета)

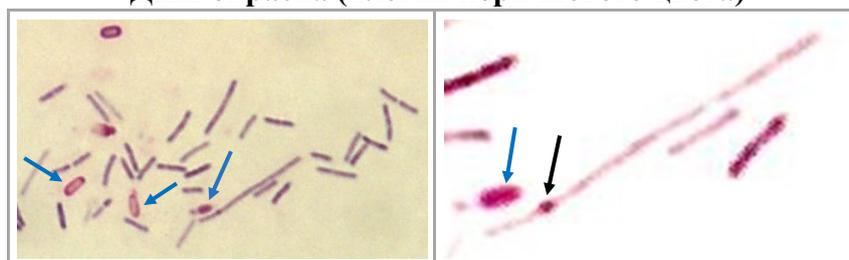


Рисунок 4. – Рост «Is HeLa is 6» в пересеве. Исчезновение «хвостов» у «пустых» клеток, частичная КУ клеток (синие стрелки), КУ зерно в длинной палочке (черная стрелка), Kinyoun, 10x100, +25 %

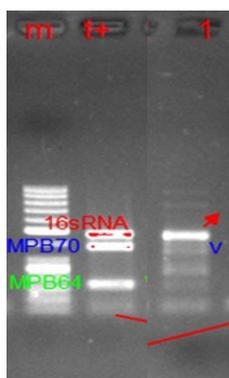


Рисунок 5. – Амплификаты ДНК «Is HeLa is 6», полученные в ПЦР с праймерами 16s RNA, MPB 70, MPB 64 (t+ – положительный контроль, фракции сверху вниз)

В ПЦР ДНК «Is HeLa is 6» реагировала с праймерами 16s RNA, MPB 70, MPB 64 (рисунок 5) и с IS 6110 (Cq 36.04). То есть «Is HeLa is 6» с учетом НКУ и культурально-морфологических свойств явно относилась к CWD МБТ.

В посевах «Is HeLa is 6» рос в виде характерных для CWD МБТ [19] полиморфных палочковидных форм (рисунок 6). Клетки разной формы явно имели одинако-

вое происхождение и, вероятно, первично образовывались в протопластах (рисунок 7). В дальнейшем делящиеся клетки могли образовывать клетки с разной морфологией (рисунок 6).

Контрольный посев стимулятора роста с FBS, которую добавляли в культуральную среду с последующими 8 «слепыми» посевами, дал отрицательный результат.

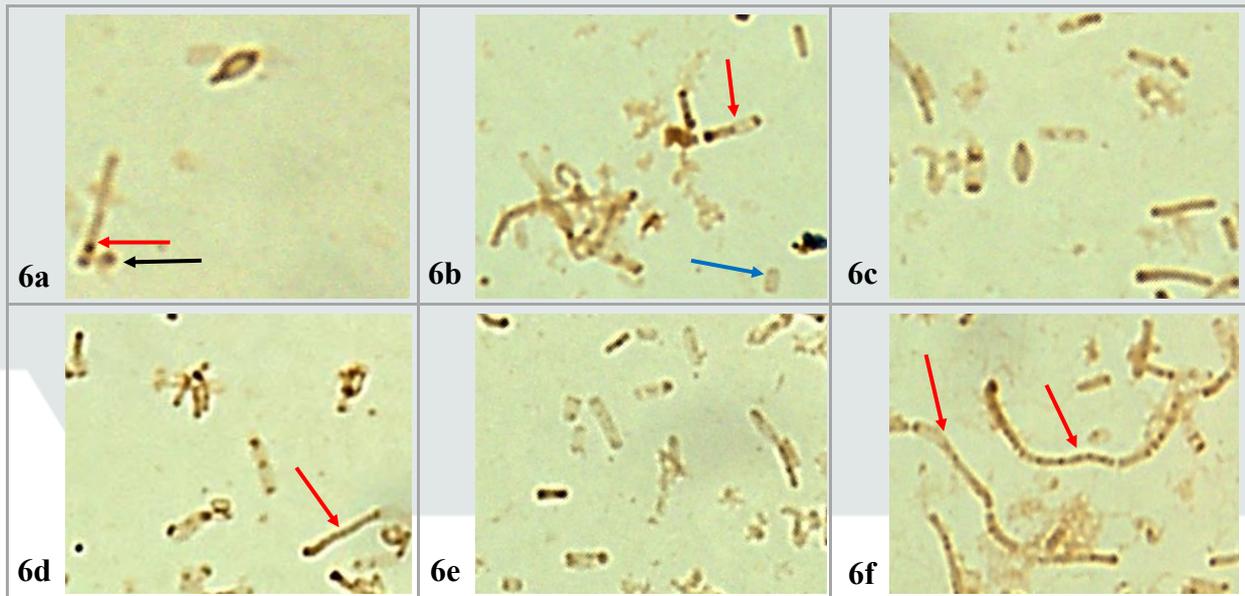


Рисунок 6. – «Is HeLa is 6» – характерные для CWD МБТ формы:
6а – пустая клетка с «хвостом», длинная палочка с 2 зернами (красная стрелка), коккоид (черная стрелка); **6б** – колбовидная клетка (красная стрелка), короткая «пустая» биполярная клетка (синяя стрелка); **6с–6f** – веретеновидная клетка, толстые биполярные и зернистые палочки

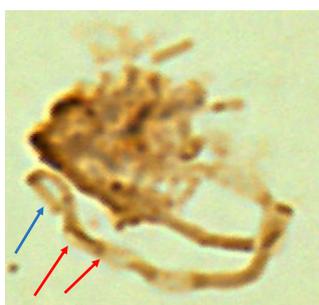


Рисунок 7. – Начало роста «Is HeLa is 6».
Образование в протопласте клеток разной морфологии: короткие зернистые и биполярные палочки, длинные толстые и «пустые» палочки. ДИП, 10x100

Бактериальную массу «Is HeLa is 6» дезинтегрировали, соникат после отделения детрита фильтровали через Amicon Ultracel® 100K и 3K, ультрафильтраты фильтровали через Millex® GP 0.22 µm и после 48 ч инкубации в стимуляторе роста (1:2, 37 °C) сеяли на среду MucCel DW.

Через 7 дней в пробирке I «слепого»

пересева ультрафильтрата 100 kDa появились желтоватые колонии – «Is HeLa 100 kDa+0.22» (рисунок 8). В мазках преобладали коккоиды, собранные в тетрады (рисунок 9а). В последующих посевах коккоиды группировались хаотично (рисунок 9б–d) и при длительном росте становились «пустыми» (рисунок 9с).

Коккоиды «Is HeLa 100 kDa+0.22» при ДИП окраске связывали антитела к антигенам *M. tuberculosis*, окрашивались в коричневый цвет (рисунок 9d), агглютинировались антисывороткой к *M. tuberculosis*



Рисунок 8. – Первичный рост «Is HeLa 100 kDa+0.22» в первом «слепом» пересеве (отдельные колонии по ходу петли)

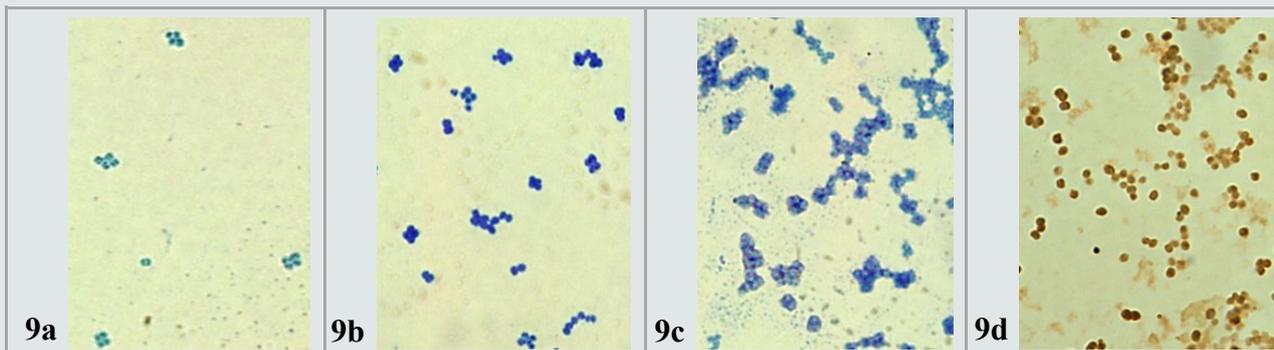


Рисунок 9. – «Is HeLa 100 kDa+0.22»: 9a – рост в 1-м «слепом» пересеве; 9b – рост во 2-м пересеве; 9c – «пустые» коккоиды при длительном росте без посева. 9a–9c – Kinyoun; 9d – ДИП окраска

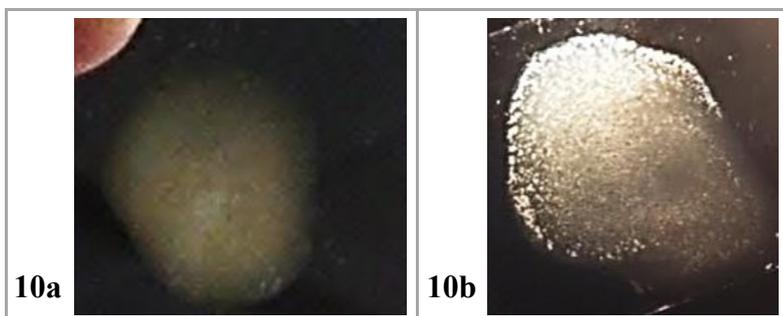


Рисунок 10. – РА «Is HeLa 100 kDa+0.22»: 10a – отсутствие агглютинации в сыворотке с высоким содержанием «нормальных» антител; 10b – агглютинация ++++ в антисыворотке к *M. tuberculosis* H₃₇Rv

Через 10 дней в 1-м «слепом» пересеве ультрафильтрата сониката «Is HeLa is 6», полученного фильтрацией через Amicon Ultracel® 3K, обнаружен газонный рост полиморфных палочек (рисунок 11), в том числе «пустых» клеток (рисунок 12), похожих на клетки материнского «Is HeLa is 6»

(рисунки 3, 4). В последующих пересевах клетки изолята «Is HeLa 3 kDa+0.22» приобретали характерный для CWD МБТ полиморфизм (рисунок 13) [19], как и клетки материнского штамма «Is HeLa is 6» (рисунки 3, 4, 6).



Рисунок 11. – Первичный рост в посевах ультрафильтрата 3К сониката «Is HeLa is 6» («Is HeLa 3 kDa+0.22»), Kinyoun, 10×100



Рисунок 12. – «Is HeLa 3 kDa+0.22»
в 1-м пересеве:

12a – контроль инактивации ЭП;
12b – ДИП окраска, 10x100

В одном из пересевов «Is HeLa 100 kDa+0.22» произошла трансформация коккоидов в ЧКУ зернистую массу (рисунок 14a), давшую рост типичных для CWD МБТ полиморфных палочковидных форм – «Is HeLa 100 kDa+0.22 rod» (рисунок 14 b). В ПЦР ДНК изолята реагировала с праймерами MPB 70, MPB 64 (рисунок 15) и IS 6110 (Cq 36,89).

В ИФА соникаты изолятов реагировали с разведениями антисыворотки к *M. tuberculosis* H₃₇Rv 1:1280-1:2560 и выше (таблица 1). По показателю Δ ОП с разведениями антисыворотки к *M. tuberculosis* H₃₇Rv наибольшим родством с типичными МБТ обладал изолят «Is HeLa 3 kDa+0.22». Остальные изоляты имели примерно та-

кую же степень антигенного родства с *M. tuberculosis* H₃₇Rv, как и штамм CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv (таблица 1).

В ИФА, РИД, РИЭФ, ПИЭФ ПГ с антисывороткой к CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv (таблица 2, рисунки 16–18) «Is HeLa is 6», «Is HeLa 100 kDa+0.22 rod», «Is HeLa 3 kDa+0.22» показали выраженное антигенное родство с CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Относительно слабо с ней реагировал только соникат «Is HeLa 100 kDa+0.22» (таблица 2), но по результатам иммунодиффузии (рисунки 19–21) было видно, что он содержал антигены, идентичные антигенам CWD *M. tuberculosis* и других изолятов, хотя в меньшей концентрации (рисунки 17–20).

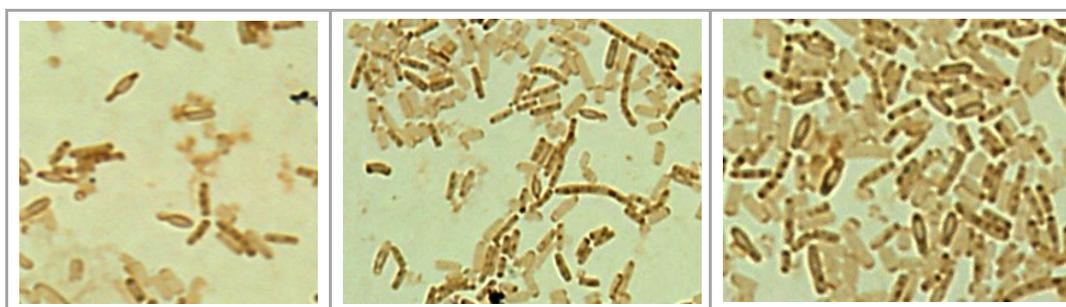


Рисунок 13. – Характерные формы клеток «Is HeLa 3 kDa+0.22», ДИП окраска, 10×100

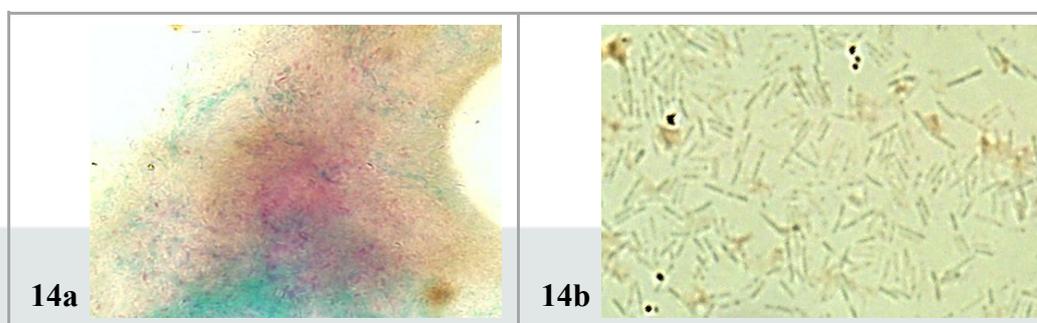


Рисунок 14. – Трансформация «Is HeLa 100 kDa+0.22»: 14a – ЧКУ клетки (красноватого цвета); 14b – рост трансформированной культуры в пересеве, Kinyoun, 10×100

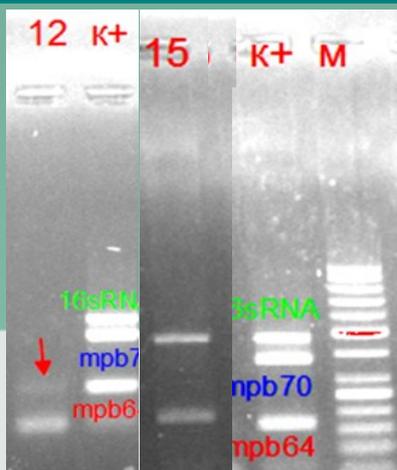


Рисунок 15. – Амплификаты, полученные в ПЦР с ДНК: 12 – «Is HeLa is 100 kDa+0.22»; 15 – «Is HeLa 100 kDa+0.22 rods» с праймерами 16s RNA, MPB70, MPB 64 (K+ – положительный контроль)

ИФА с антисывороткой к «Is HeLa is 6» показал антигенное родство изолятов, происходивших от этого штамма, на что указывали интенсивные реакции их соникатов с антисывороткой в разведении

1:2560 (таблица 3) и образование преципитатов в РИЭФ (рисунок 19). Близость антигенного состава изолятов HeLa подтверждалась и в РИЭФ с антисывороткой к «Is HeLa 3kDa+0.22» (рисунок 20).

Таблица 1. – $\Delta ОП^X$ в ИФА соникатов изолятов из клеток HeLa с антисывороткой *M. tuberculosis* H₃₇Rv

Разведения антисыворотки	Соникаты				
	CWD <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	Is HeLa is 6	Is HeLa 100+0.22	Is HeLa 100+0.22 rods	Is HeLa 3+0.22
1:20	4,6	4,3	3,3	3,7	2,3
1:40	5,7	6,7	3,5	3,8	3,1
1:80	5,9	4,0	3,8	3,9	4,9
1:160	4,7	3,3	4,7	3,9	5,8
1:320	2,4	4,2	4,4	5,0	8,4
1:640	2,7	2,3	4,1	3,2	5,4
1:1280	1,6	2,4	4,1	2,1	5,5
1:2560	1,4	1,4	2,6	1,9	5,8
Сумма $\Delta ОП$	29	28,6	30,5	27,5	41,2

Примечание – X – $\Delta ОП = ОП_{с исследуемой антисывороткой} : ОП_{с нормальной сывороткой крови}$

Таблица 2. – $\Delta ОП^X$ в ИФА соникатов изолятов из клеток HeLa с антисывороткой к CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv

Разведения антисыворотки	Соникаты				
	CWD <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	Is HeLa is 6	Is HeLa 100+0.22	Is HeLa 100+0.22 rods	Is HeLa 3+0.22
1:20	7,7	6,3	1,7	4,8	2,4
1:40	17,7	15,4	2,0	7,7	3,5
1:80	27,3	11,2	2,0	12,5	7,1
1:160	31,3	14,0	1,8	18,1	10,3
1:320	24,6	27,7	1,4	40,6	21,2
1:640	25,6	20,2	1,5	25,7	15,0
1:1280	21,5	24,7	1,6	26,7	19,8
1:2560	14,5	21,0	1,6	18,2	28,0
Сумма $\Delta ОП$	170,2	140,5	13,6	154,3	107,3

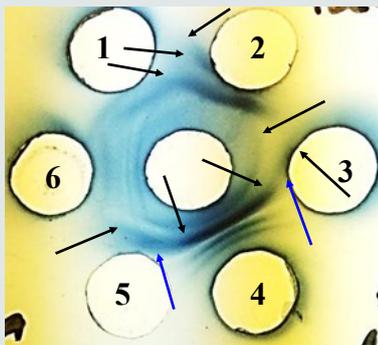


Рисунок 16. – РИД: в центре антисыворотка к CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv. В периферических лунках соникаты: 1 – CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv; 2 – «Is HeLa is 6»; 3 – «Is HeLa 100 kDa+0.22»; 4 – «Is HeLa 100 kDa+0.22 rods»; 5 – «Is HeLa 3kDa+0.22»; 6 – CWD МБТ из крови человека (АП) с латентной туберкулезной инфекцией

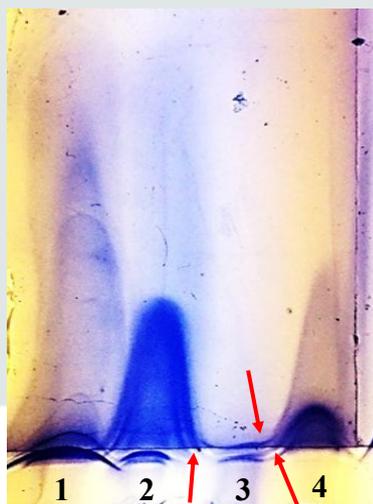
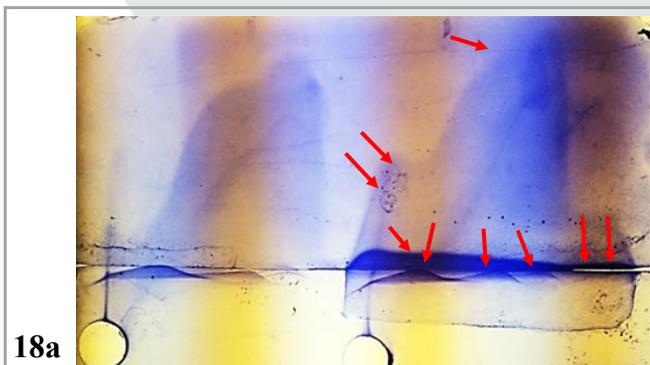
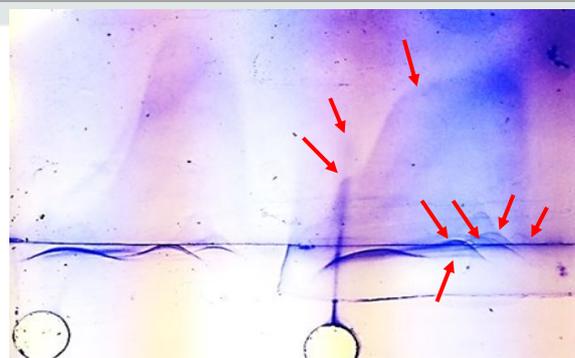


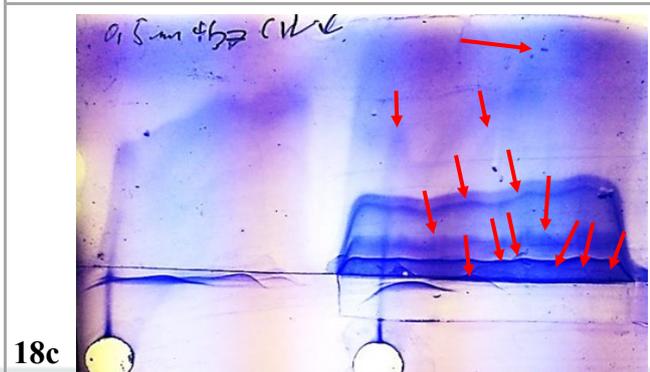
Рисунок 17. – РИЭФ соникатов: 1 – CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv; 2 – «Is HeLa is 6»; 3 – «Is HeLa 100 kDa+0.22»; 4 – «Is HeLa 3kDa+0.22» с антисывороткой к CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv. Соникат «Is HeLa 100 kDa+0.22» содержит общие антигены с CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv, идентичные антигенам «Is HeLa is 6» и «Is HeLa 3kDa+0.22», но в значительно меньшей концентрации (красные стрелки)



18a



18b



18c

Рисунок 18. – ПИЭФ ПГ сониката CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv (в геле I направления по 100 мкл в круглых лунках) с антисывороткой к CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv (в геле II направления, 44 мкл/см³ агарозы). В ПГ по 100 мкл соникатов: 18a – «Is HeLa is 6»; 18b – «Is HeLa 100 kDa+0.22»; 18c – «Is HeLa 3kDa+0.22». Общие антигены обозначены стрелками

Изоляты оказались устойчивыми к аминогликозидам, цефалоспорином, тетрациклином, частично к пенициллином, относительно слабо на них действовали макролиды. Только фторхинолоны эффектив-

но подавляли их рост (таблица 4). В целом профиль их лекарственной устойчивости был близок к CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv.

Изоляты меняли морфологию не только при первичном росте, но особенно

заметно под действием антибиотиков на границах зон задержки роста (рисунок 21). Интересно, что под действием стрептомицина, неомицина и левофлоксацина у «Is HeLa is 6» проявлялась ЧКУ и часть клеток окрашивалась в красный (с оттенками)

цвет (рисунок 21). Под влиянием наиболее эффективных фторхинолонов, вероятно, как адаптивная реакция, появлялись симпласты, дававшие рост неокрашивающихся ветвящихся форм (рисунок 21, стрелки).

Таблица 3. – Δ ОП^X в ИФА соникатов изолятов из клеток HeLa с антисывороткой к «Is HeLa is 6»

Разведения антисыворотки	Соникаты				
	CWD <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	Is HeLa is 6	Is HeLa 100+0.22	Is HeLa 100+0.22 rods	Is HeLa 3+0.22
1:20	6,8	6,0	2,3	4,7	2,2
1:40	11,4	15,5	2,8	6,5	3,4
1:80	14,3	12,2	2,7	9,5	6,5
1:160	12,7	16,0	3,2	12,9	9,1
1:320	7,8	31,5	2,9	27,3	15,8
1:640	6,7	23,6	3,1	14,2	12,0
1:1280	4,8	29,2	2,2	11,4	9,5
1:2560	3,1	23,4	1,9	5,3	10,4
Сумма Δ ОП	67,6	157,4	21,1	91,8	68,9

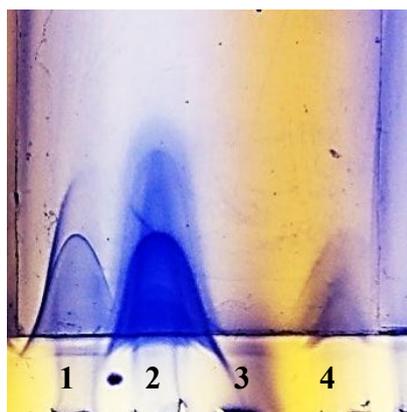


Рисунок 19. – РИЭФ соникатов:
1 – CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv; 2 – «Is HeLa is 6»;
3 – «Is HeLa 100 kDa+0.22»; 4 – «Is HeLa 3kDa+0.22»
с антисывороткой к «Is HeLa is 6»

Заражение морских свинок изолятами HeLa не вызвало у них признаков заболевания и явной потери живой массы, но через 1 месяц в лейкоцитах обнаружены антигены, реагирующие с антителами к *M. tuberculosis*, что при ДИП окраске придавало им коричневый цвет (рисунок 22).

Кроме того, в крови обнаруживались специфически окрашенные палочковидные формы с типичной для CWD МБТ морфологией (рисунок 22). В одном случае замечен контакт такой формы с макрофагом, содержащим антигены, связывавшие антитела к *M. tuberculosis* (рисунок 22).

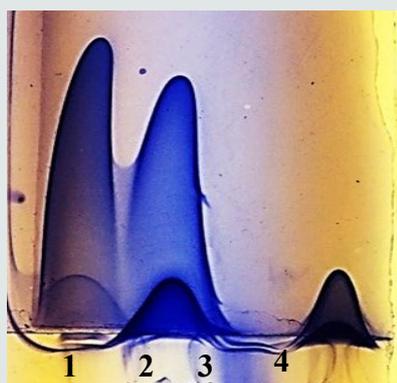


Рисунок 20. – РИЭФ соникатов:
 1 – CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv;
 2 – «Is HeLa is 6»; 3 – «Is HeLa 100 kDa+0.22»;
 4 – «Is HeLa 3kDa+0.22»
 с антисывороткой к «Is HeLa 3kDa+0.22»

Таблица 4. – Диаметры зон задержки роста (в мм) изолятов в диффузионном тесте со стандартными дисками антибиотиков

CWD МБТ	Пенициллины		Аминогликозиды			Азитромицин
	Пенициллин	Амоксициллин	Стрептомицин	Неомицин	Канамицин	
«Is HeLa is 6»	12 ^x	24	14	19±	15	22
«Is HeLa 3kDa+0.22»	0	12	8	14	18	22
CWD <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	0	25	22	24	21	22
CWD МБТ	Фторхинолоны		Цефалоспорины		Тетрациклин	
	Левофлоксацин	Ципрофлоксацин	Цефалотин	Цефаклор		
«Is HeLa is 6»	36	36	0	0	16	
«Is HeLa 3kDa+0.22»	32	34	0	0	18	
CWD <i>M. tuberculosis</i> H ₃₇ Rv	37	35	12	0	23	

Примечание – ^x красным шрифтом выделены результаты, указывающие на резистентность к антибиотику (диаметр зоны задержки 18 мм и менее)

На вскрытии у зараженных морских свинок не обнаружено заметных патологических изменений, кроме увеличения селезенки. Но при микроскопическом исследовании во внутренних органах всех зараженных животных обнаружены микрогранулемы с КУ зернистыми формами, часто

с коричневыми ореолами, свидетельствующими о присутствии антигенов, реагирующих с антителами к антигенам МБТ (рисунки 22–25). Кроме того, часть клеток внутренних органов по результатам ДИП окраски содержало антигены МБТ.

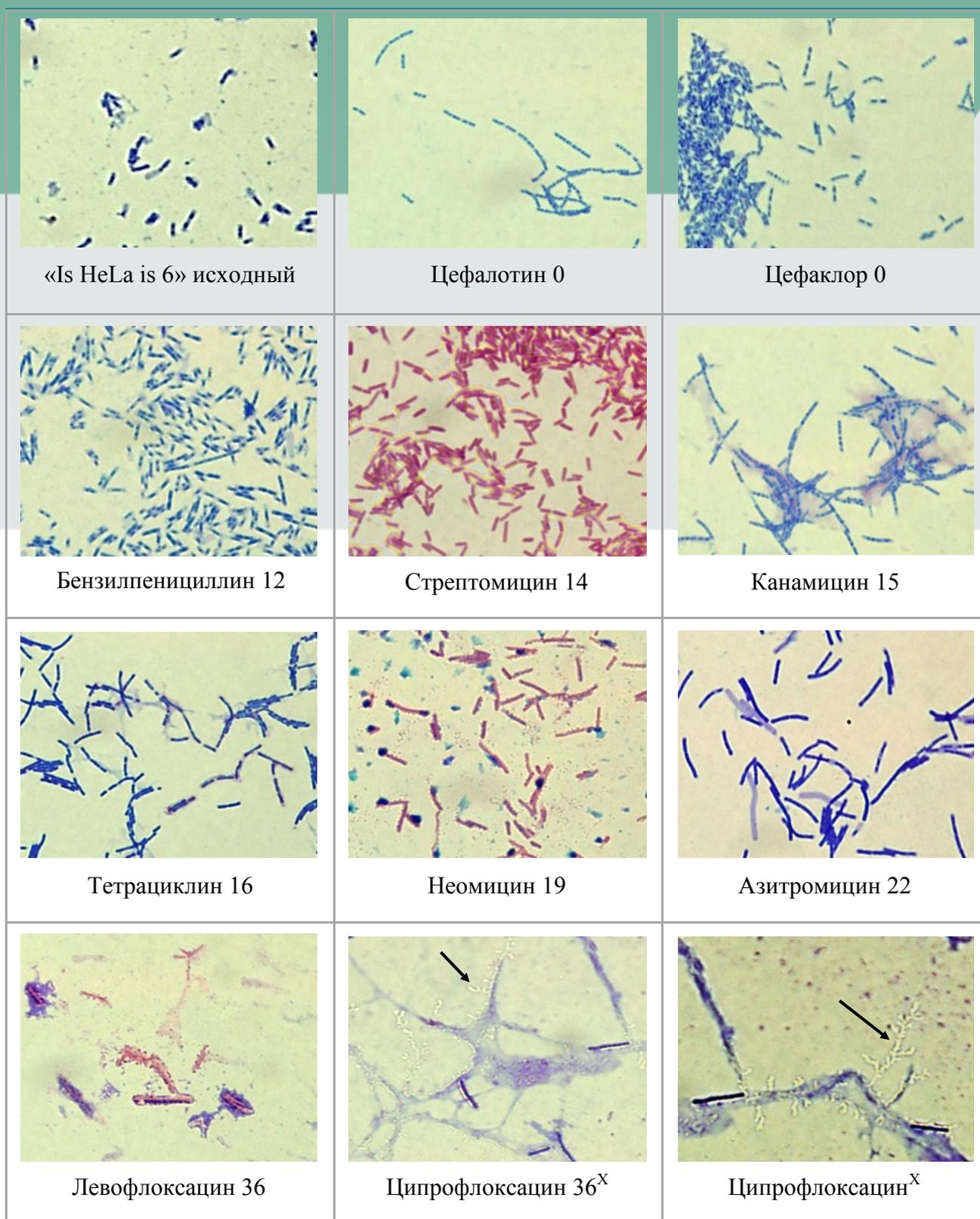


Рисунок 21. – Изменение морфологии «Is HeLa is 6» под действием антибиотиков на границе зоны задержки роста в диффузионном тесте. Размер зоны задержки роста в мм в соответствии с таблицей 4, ^Xстрелки – неокрашивающиеся ветвящиеся формы, Kinyoun 10×100

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее антигены, общие с МБТ, были найдены в гепатокарциномах, меланомах [23, 24, 25], в миелобластах (Kasumi-1) при миелоидном лейкозе, Т-лимфоцитах (Jurkat) при Т-лимфобластной лейкемии [20]. Если в ранних исследованиях [23, 24, 25]

это объяснялось возможным иммунохимическим родством антигенов тканей и микроорганизмов, не предполагая связи с МБТ, то из клеток Kasumi-1, Jurkat, FLK-BLV, HeLa были выделены CWD МБТ, что позволяет серьезно рассматривать роль туберкулезной инфекции в онкогенезе.

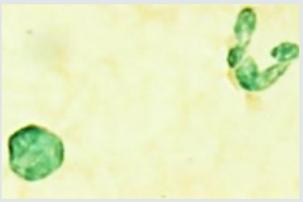
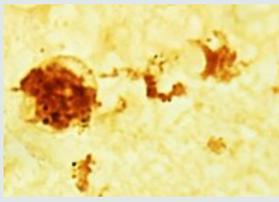
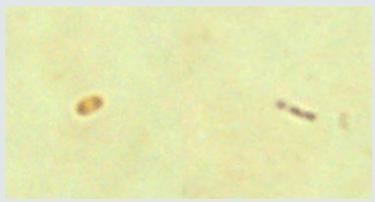
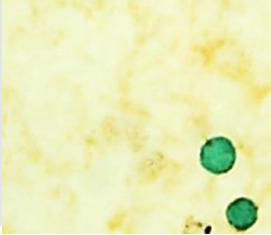
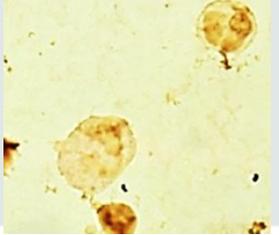
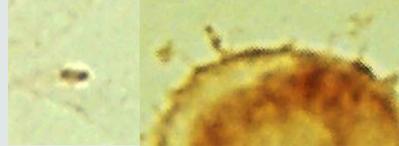
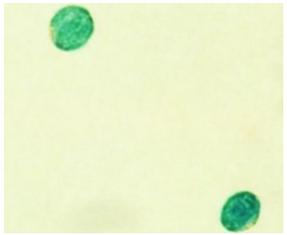
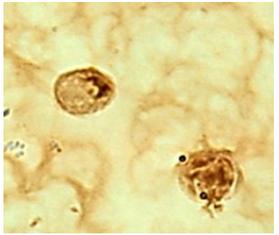
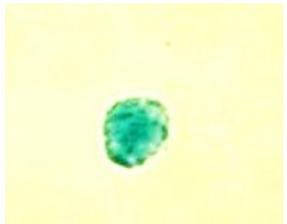
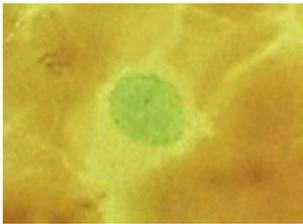
Заражены изолятом	Контроль инактивации ЭП	ДИП окраска	CWD МБТ в крови ДИП окраска
«Is HeLa is 6»			
«Is HeLa 100 kDa+0.22»			 CWD МБТ на макрофаге, содержащем антигены, связавшие антитела к <i>M. tuberculosis H₃₇Rv</i>
«Is HeLa 3 kDa+0.22»			
Интактная морская свинка (контроль)			

Рисунок 22. – Обнаружение антигенов, реагирующих с антителами к *M. tuberculosis H₃₇Rv* в клетках крови морских свинок, зараженных изолятами из клеток HeLa

Факт выделения CWD МБТ из культур раковых клеток – еще не свидетельство того, что именно такая форма МБТ в них персистировала. «Is HeLa is 6» выделен благодаря использованию стимулятора роста и среды МусСел DW. Особенностью метода является то, что независимо от того, в

какой форме в пробе присутствуют МБТ (КУ палочки, в том числе инактивированные, L-, CWD, вирусоподобные, спороподобные, зернистые формы), в любом случае появляется рост CWD МБТ, своеобразного маркера туберкулезной инфекции. Инкубация в стимуляторе роста включает

программы восстановления и стимулирует рост CWD МБТ, чему способствуют и «слепые» пересевы, при которых происходит необходимый контакт и взаимодействие ростовых элементов. Регенерация МБТ в CWD форме биологически целесо-

образна ввиду ее повышенной жизнеспособности (рост на простых средах в широком диапазоне температур, адаптация к изменяющимся условиям, в том числе благодаря уникальному полиморфизму).



Рисунок 23. – Отпечатки органов морской свинки, зараженной «Is HeLa is 6».
Гранулемы с рубиново-красными (КУ) зернистыми МБТ: 23а – почка; 23b – легкое; 23d – селезенка; 23f – почки. Ткани и клетки, содержащие антигены, реагирующие с антителами к *M. tuberculosis* H₃₇Rv: 23b – легкое; 23c – печень; 23d – селезенка; 23f – почки). Палочковидные CWD МБТ (23b – легкое, синяя стрелка).
23а – Kinyoun, 23b–23f – ДИП окраска

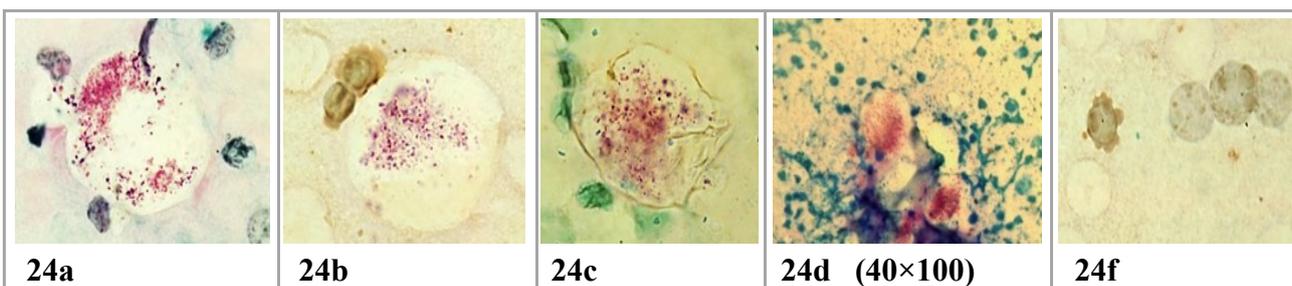


Рисунок 24. – Отпечатки органов морской свинки, зараженной «Is HeLa 100 kDa+0.22».
Гранулемы с рубиново-красными (КУ) зернистыми МБТ: 24а, 24b – печень; 24с – легкое; 24d – селезенка. Ткани и клетки, содержащие антигены, реагирующие с антителами к *M. tuberculosis* H₃₇Rv: 24b – печень; 24с – легкое; 24f – печень.
24а, 24d – Kinyoun, 24b, 24с, 24f – ДИП окраска

В лейкозных [20] и клетках HeLa не обнаружено типичных и CWD МБТ, которые могли синтезировать антигены и дать рост бактериальных форм. Возможно, в них персистировали трудноразличимые внутри клеток L-формы МБТ в виде зерен, вакуолей или диффузных протопластов [4, 17]. Необычные свойства изолятов [20, 22] позволяют предположить существование и неизвестных форм персистирования МБТ в клетках, в том числе с интеграцией генома или его фрагментов в геном хозяина [15, 16, 17]. Ведь «Is HeLa is 6», как и изоляты

из клеток Kasumi-1 и Jurkat [20], демонстрировали своеобразную «бессмертность» и образование супермелких и суперустойчивых форм типа прионов и нанобактерий. То, что оставалось от их клеток после летального химического и механического разрушения, удаления детрита и молекул крупнее не только 100 kDa, но и 3 kDa (!?), давало рост клеток, почти не отличавшихся не только от материнского изолята, но и от экспериментально полученного штамма CWD *M. tuberculosis* H₃₇Rv.

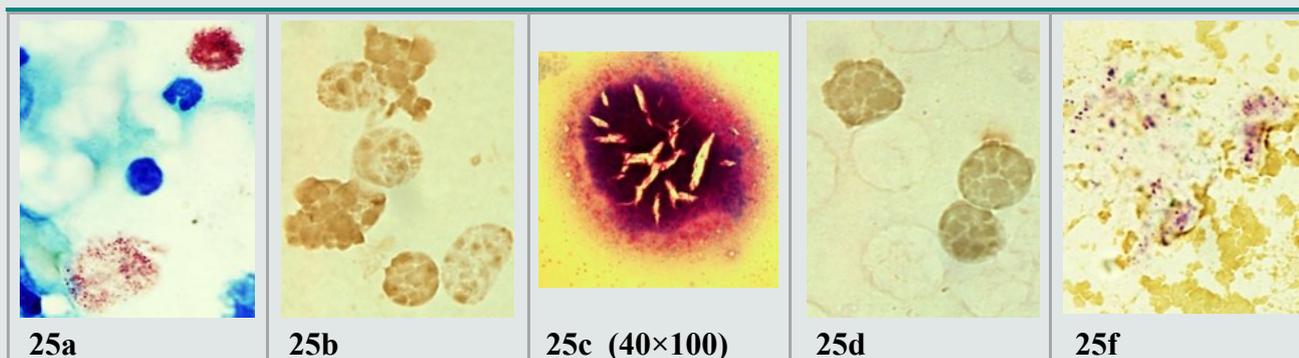


Рисунок 25. – Отпечатки органов морской свинки, зараженной «Is HeLa 3 kDa+0.22». Гранулемы с рубиново-красными (КУ) зернистыми МБТ: 25a – легкое; 25c – печень; 25f – селезенка. Ткани и клетки, содержащие антигены, реагирующие с антителами к *M. tuberculosis* H₃₇Rv: 25b – легкое; 25d – печень; 25f – селезенка.
25a, 25c – Kinyoun, 25b, 25d, 25f – ДИП окраска

Интересно, что такая «бессмертность», «суперфильтруемость», невероятный механизм передачи генетической информации, обеспечивающие регенерацию клеток, изначально присущи МБТ [22]. Причем «ультрафильтруемость» обнаружена 90 лет назад, когда было установлено, что какие-то формы МБТ проходили через коллодиевые фильтры, не пропускавшие столбнячный (150 kDa) и дифтерийный токсины (62 kDa) [27] и задерживались только фильтром 397 Da (фильтруемость азотно-кислого стрихнина) [28]!

Безусловно, констатирую уникальные свойства МБТ и возможности новых методов культивирования, необходимо оценить риск возможной контаминации. Компонент, который потенциально мог содержать МБТ – эмбриональная сыворотка (FBS). Но ее получают от эмбрионов туберкулиноотрицательных коров и стерилизуют фильтрацией через тройные мембранные фильтры 0,1 μm. То есть, типичные МБТ не должны попасть в конечный продукт. В исследованиях использовали FBS дополнительно стерилизованную гамма-лучами.

Это исключает спорную возможность присутствия в ней фильтрующихся форм МБТ. Самое главное – контрольный посев FBS со стимулятором роста, позволявший восстановить жизнеспособность даже инактивированных фильтрующихся форм [22], если они в ней находились, дал отрицательный результат.

Участью МБТ в канцерогенезе способствует свободное проникновение в клетки, чему помогает локализующийся в клеточной стенке белок Mse4A [29]. Пероксид водорода, лизоцим и другие защитные факторы, убивающие внутри клетки обычную микрофлору, для МБТ являются трансформирующими агентами, превращающими их в CWD (L-) [30], а главное – в вирусоподобные формы. На это указывает идентичность морфологии первичных изолятов из лизированной и профильтрованной через фильтр 0.22 μm крови человека с латентной туберкулезной инфекцией, из клеток HeLa и ультрафильтрата 3 kDa (рисунки 26, 27), восстанавливающихся из фильтрующихся вирусоподобных форм.

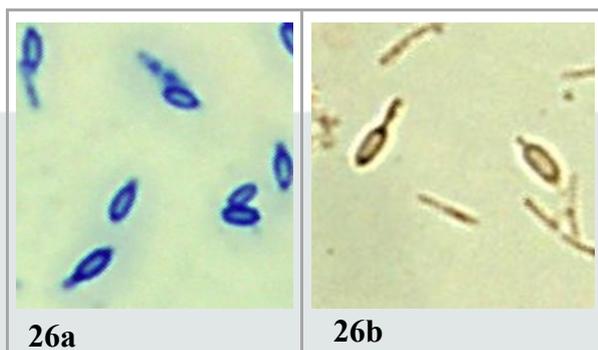


Рисунок 26. – Первичный рост:
26a – фильтрованной через фильтр 0.22 μm лизированной крови человека с латентной туберкулезной инфекцией;
26b – «Is HeLa is 6».
Видны «пустые» клетки с «хвостом».
26a – Kinyoun, 26b – ДИП окраска



27a



27b

**Рисунок 27. – Пересев роста:
27a – фильтрованной через фильтр
0.22 µm гемолизированной крови
человека с латентной туберкулезной
инфекцией (ЧКУ клеток);
27b – «Is HeLa 3kDa+0.22»,
Kinyoun, 10×100**

Персистенция МБТ в клетках может вызывать геномную нестабильность [31, 32], облегчающую интеграцию генов МБТ, включая гены «бессмертия». Придание инфицированным клеткам хозяина «бессмертности» дает МБТ возможность размножаться с каждым их делением, избегая контакта с иммунной системой, наступающим при апоптозе клеток.

На изоляты из клеток HeLa эффективно действовали только фторхинолоны. Это еще не значит, что они могут применяться для лечения рака, так как МБТ явно не персистируют в клетках в бактериальной форме. Но не исключено, что на каких-то этапах онкогенеза, когда в крови и тканях появляются СВД МБТ, они могут быть полезны, тем более известно, что многие противораковые лекарства эффек-

тивно действуют на МБТ [33].

Выделенные изоляты по фенотипу резко отличались от типичных КУ МБТ. Тем не менее, они имели общие антигены, у них проявлялась частичная кислотоустойчивость, особенно после контакта с некоторыми антибиотиками. Но не только результаты ПЦР были решающими в их идентификации. При заражении изолятами морских свинок во всех случаях они вызывали образование микрогранул с КУ зернами, что характерно для латентной туберкулезной инфекции МБТ со сниженной патогенностью.

Полученные результаты, конечно, не бесспорны, но они демонстрируют наличие у МБТ необычных свойств и необходимость изменения подходов к профилактике туберкулезной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. *The Frequency Of Tuberculosis In Man* // *JAMA*. – 2009. – Vol. 302. – № 15. – P. 1709.
2. Houben, R. M. G. J. *The Global Burden of Latent Tuberculosis Infection: A Re-estimation Using Mathematical Modelling* / R.M.G.J. Houben, P. J. Dodd // *PLOS Medicine*. – 2016. – Vol. 13. – *The Global Burden of Latent Tuberculosis Infection*. – № 10. – P. e1002152.
3. Митинская, Л. А. 80 лет вакцинирования БЦЖ / Л. А. Митинская // *Проблемы туберкулеза*. – 2001. – № 1. – С. 51–53.
4. *Mycobacterial L-forms are found in cord blood: A potential vertical transmission of BCG from vaccinated mothers* / N. Markova [et al.] // *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. – 2016. – Vol. 12. – *Mycobacterial L-forms are found in cord blood*. – № 10. – P. 2565–2571.
5. *Latent Mycobacterium tuberculosis Infection* / H. Getahun [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2015. – Vol. 372. – № 22. – P. 2127–2135.
6. Дорожкова, И. Р. *Скрыто протекающая туберкулезная инфекция* / И. Р. Дорожкова, С. С. Земскова. – М.: Медицина, 1984. – 222 с.
7. Warthin, A. S. *The Coexistence of Carcinoma and Tuberculosis of the Mammary Gland* / A. S. Warthin // *The American Journal of the Medical Sciences*. – 1899. – Vol. 118, № 1. – P. 25–34.
8. Sternberg H. *Experimentelle Untersuchungen uber die Wirkung toter TBC* / H. Sternberg // *Verhandl. d. Deutsch. patol. Ges.* – 1902. – P. 204.
9. Young, J. *Description of an Organism Obtained from Carcinomatous Growths* / J. Young // *Edinb Med J*. – 1921. – Vol. 27. – № 4. – P. 212–221.

10. Nuzum, J. *The experimental production of metastasizing carcinoma of the breast of the dog and primary epithelioma in man by repeated inoculation of a micrococcus isolated from human breast cancer* / J. Nuzum // *Surg Gynecol Obstet.* – 1925. – № 11. – P. 343–352.
11. Sweany, H. C. *Mutation forms of the tubercle bacillus* / H. C. Sweany // *JAMA.* – 1926. – Vol. 87. – № 15. – P. 1206–1211.
12. Alexander-Jackson, E. *A specific type of microorganism isolated from animal and human cancer* / E. Alexander-Jackson // *Bacteriol Org Growth.* – 1954. – № 18. – P. 37–51.
13. Diller, I. *Experiments with mammalian tumor isolates* / I. Diller // *Ann NY Acad Sci.* – 1970. – № 174. – P. 655–674.
14. Livingston, V. *Cancer: a new breakthrough* / V. Livingston, V. Wuerthele-Caspe. – Los Angeles: Nash Publishing, 1972. – 269 p.
15. Tian, Y. *Detection of Mycobacterium tuberculosis L-forms and MPB64 gene in breast cancer tissues* / Y. Tian, X. K. Cui, T. Hao // *J. of Practical Medicine.* – 2013. – № 15. – P. 45–46.
16. *Clinical end-points associated with Mycobacterium tuberculosis and lung cancer: implications into host-pathogen interaction and coevolution* / Y. Tian [et al.] // *BioMed Research International.* – 2015. – Vol. 2015. – P. 1–9.
17. *Association of Mycobacterium tuberculosis L-formmpb64 gene and lung cancer* / M. Abudureheman [et al.] // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* – 2019. – Vol. 23, № 1. – P. 113–120.
18. *Further evidence for cancer as cell-wall-deficient mycobacterial disease* / A. P. Lysenko [et al.] // *Journal of Molecular Pathological Epidemiology.* – 2016. – Vol. 1, № 1. – P. 1–12.
19. *Вирус бычьего лейкоза – вирусоподобная форма микобактерий туберкулеза?* / А. П. Лысенко [и др.] // *Экология и животный мир.* – 2019. – № 1. – С. 15–24.
20. *Вероятная связь миелоидного и лимфобластного лейкоза с туберкулезной инфекцией* / А. П. Лысенко [и др.] // *Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария.* – 2020. – № 1. – С. 23–39.
21. *Выявление микобактерий туберкулеза в тканях с помощью дифференцирующей иммунопероксидазной окраски* / А. П. Лысенко [и др.] // *Туберкулез и болезни легких.* – 2014. – № 10. – С. 55–58.
22. *Микобактерии туберкулеза при термическом воздействии образуют защитные формы, проходящие через ультрафильтры и восстанавливающие жизнеспособность в виде CWD форм* / А. П. Лысенко [и др.] // *Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария.* – 2019. – № 1. – С. 33–45.
23. *Borsos, T. Antigenic Relationship Between Mycobacterium bovis (BCG) and a Guinea Pig Hepatoma* / T. Borsos, H. J. Rapp // *JNCI: Journal of the National Cancer Institute.* – 1973. – Vol. 51, № 3. – P. 1085–1086.
24. *Bucana, C. Immunoelectronmicroscopic Analysis of Surface Antigens Common to Mycobacterium bovis (BCG) and Tumor Cells* / C. Bucana, M. G. Hanna // *JNCI: Journal of the National Cancer Institute.* – 1974. – Vol. 53, № 5. – P. 1313–1323.
25. *Minden, P. Shared antigens between human malignant melanoma cells and Mycobacterium bovis (BCG)* / P. Minden, T. R. Sharpton, J. K. McClatchy // *Journal of Immunology.* – 1976. – Vol. 116. – № 5. – P. 1407–1414.
26. *The tuberculin skin test: How safe is safe? – the tuberculins contain unknown forms capable of reverting to cell-wall-deficient mycobacteria* / A. P. Lysenko [et al.] // *Clinical and Experimental Medical Sciences.* – 2014. – Vol. 2. – P. 55–73.
27. *Sanarelli, G. Demonstration in vivo et in vitro des formes filtrantes du virus tuberculeux* / G. Sanarelli, A. Alessandrini // *C. rend. Soc. Biol.* – 1930. – Vol. 104. – P. 1241.
28. *Sanarelli, G. Demonstration in vivo de l'ultravirus tuberculeux* / G. Sanarelli, A. Alessandrini // *C. rend. Soc. Biol.* – 1931. – Vol. 106. – P. 426–429.
29. *Characterization of Mce4A protein of Mycobacterium tuberculosis: role in invasion and survival* / N. Saini [et al.] // *BMC Microbiology.* – 2008. – Vol. 8, № 1. – P. 200.
30. *Mattman, L. H. Cell wall deficient forms: stealth pathogens* / L. H. Mattman. – 3rd ed. – Boca Raton: CRC Press, 2001. – 416 p.
31. *Lung carcinogenesis induced by chronic tuberculosis infection: the experimental model and genetic control* / A. Nalbandian [et al.] // *Oncogene.* – 2009. – Vol. 28, № 17. – P. 1928–1938.
32. *Mycobacterium tuberculosis promotes genomic instability in macrophages* / J. Castro-Garza [et al.] // *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* – 2018. – Vol. 113. – № 3. – P. 161–166.
33. *Broxmeyer, L. Cancer and the Science of Denial – with Breast Cancer* / Long Island Breast Cancer / L. Broxmeyer // *Journal of Tumor Medicine and Prevention.* – 2017. – Vol. 1, № 3. – P. 555–563.

Костюк Н.И., кандидат ветеринарных наук²
Пинчук С.В., кандидат биологических наук¹
Василевич И.Б., научный сотрудник¹
Гапеева Т.А., кандидат биологических наук
Кабачевская Е.М., кандидат биологических наук¹
Стрельчяня И.И., кандидат ветеринарных наук, доцент²
Ломако Ю.В., кандидат ветеринарных наук, доцент²
Барсукова М.В., лаборант 1 категории²
Борисик Р.Н., аспирант³
Руколь В.М., доктор ветеринарных наук, профессор³
Волотовский И.Д., доктор биологических наук, академик¹

¹ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», г. Минск

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

³УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА С ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИМИ БОЛЕЗНЯМИ

Резюме

Изучена эффективность применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) из жировой ткани крупного рогатого скота для лечения гнойно-некротических болезней копытец и пальца у коров.

Полученные результаты клинических исследований свидетельствуют о том, что введение МСК жировой ткани в область очага поражения копытец крупного рогатого скота с наличием соответствующих заболеваний ускоряет образование здоровой грануляционной ткани и сокращает сроки заживления раневых дефектов на 5–8 суток по сравнению с лечением, основанным на использовании базовых терапевтических препаратов, применяемых в молочном скотоводстве.

Summary

The effectiveness of use of cattle adipose tissue-derived mesenchymal stem cells (MSCs) for a treatment of purulent-necrotic diseases of hooves and finger of dairy cattle was studied.

The results of clinical trials indicate that the treatment with adipose tissue-derived MSCs of lesion site of cattle hooves with the presence of appropriate diseases accelerates the formation of healthy granulation tissue and reduces the healing time of wound defects by 5-8 days compared with the treatment based on the use of basic therapeutic drugs used in dairy farming.

Поступила в редакцию 18.05.2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

Экспорт продукции сельского хозяйства является важнейшей статьей валютных доходов в Республике Беларусь. В последнее время на внешних рынках предприятиями нашей страны ежегодно реализуется сельскохозяйственной продукции на сумму более 5 млрд долларов, при этом основная доля экспорта приходится на мо-

лочную и мясную продукцию – свыше 70 % [9, 12].

Вместе с тем вопросы повышения эффективности и рентабельности мясомолочного производства остаются актуальными. Одним из важнейших факторов, оказывающих негативное влияние на мясную и молочную продуктивность крупного рогатого скота, является развитие различ-

ных патологических состояний животных, рост которых наблюдается при переводе животноводства на промышленную основу с созданием крупных комплексов с высоким уровнем механизации производственных процессов и большой концентрацией животных на ограниченных площадях. Такая технология животноводства, при всех ее положительных моментах, послужила причиной возникновения массовых хирургических заболеваний, среди которых доминируют болезни дистального отдела конечностей (копытец).

Согласно последним исследованиям, гнойные и гнойно-некротические поражения конечностей крупного рогатого скота наблюдаются у 14–60 % от общего поголовья в зависимости от породы, возраста животных, времени года, условий содержания в животноводческом хозяйстве [10, 2]. Приводятся также высокие цифры поражения заболеваниями копытец даже в высокоразвитых странах. В частности, сообщается о том, что 90 % молочных тёлочек в доильных залах имеют заболевания копытец, спровоцированные передвижением животных с пастбищ на твёрдые покрытия доильных площадок [11]. Основной причиной возникновения таких заболеваний является наличие травм, что в условиях отсутствия активного моциона, повышенной влажности в животноводческих помещениях, неполноценного рациона и высокой обсемененности патогенной микрофлорой ведет к возникновению и развитию целого спектра патологических состояний у животных.

Среди болезней копытец наиболее распространены язвы (венчика, мякиша, свода кожи межпальцевой щели), пододегматиты и ламиниты, тиломы, язвы Рустергольца, гнойные раны и ссадины, флегмоны венчика, гнойные остеоартриты копытцевого сустава, гнойные остеоартриты путового и венечного суставов и др. Болезни дистального отдела конечностей крупного рогатого скота крайне негативно сказываются на организме животных и их продуктивности. Развитие патологий приводит к снижению иммунобиологической резистентности организма, особенно у высоко-

продуктивных коров. У больных животных снижается аппетит, что отрицательно сказывается на их весе (потеря до 40 %) и молочной продуктивности (снижение на 14–50 %) [12]. Негативными последствиями болезней копытец крупного рогатого скота также являются вынужденная выбраковка животных (50–60 % от общего поголовья бракуемых животных), повышение ротации стада, что нарушает планы селекционно-племенной работы и не позволяет полноценно реализовать генетический потенциал породы, рост частоты задержки последа, кратности осеменения и продолжительности бесплодия (до 90–120 дней). На 100 переболевших коров недополучают до 17 телят [12]. Экономические потери от болезней копытец крупного рогатого скота, согласно оценке американских ученых, могут достигать 1000 долларов США на один случай заболевания [13, 14, 15], по оценкам российских – более 48 000 российских рублей [7].

В настоящее время лечение животных с заболеваниями копытец основывается на использовании средств, направленных на санацию очага поражения (своевременная функциональная расчистка копытцевого рога, удаление некротизированных фрагментов тканей, использование ванн с антибактериальными и пробиотическими препаратами), лечение очага поражения (использование бактерицидных мазей и присыпок, изолирующих повязок и накладок), увеличение резистентности организма (вакцинация, витаминно-минеральные комплексы) [1, 3, 7, 8]. В качестве профилактических действий и на начальных стадиях заболевания данные лечебные мероприятия достаточно эффективны, однако при прогрессировании заболевания и его переходе в более тяжелую стадию необходимо не только местное, но и системное применение антибиотиков [1, 12]. Эффективность лечения крупного рогатого скота с болезнями конечностей даже при комплексном подходе составляет около 80 %, при этом часты случаи рецидивов заболевания – до 30 % [2]. Период восстановления больного животного в зависимо-

сти от вида и стадии заболевания, методов лечения достаточно длителен и составляет от 20 до 60 и более дней [1, 8]. Сокращение сроков лечения важно, поскольку применение антибиотиков приводит к тому, что мясо болящих животных и производимое ими в данный период молоко не соответствуют санитарно-гигиеническим нормативам и запрещены к употреблению [12].

В связи с этим поиск новых эффективных методов лечения заболеваний копыт крупного рогатого скота остается крайне актуальным. Новые методы должны быть направлены на увеличение эффективности лечения, снижение случаев рецидивов болезней, сокращение срока выздоровления, уменьшение стоимости лечения, фармакологической нагрузки на организм и сохранение качества мяса и молока болящих животных в соответствии с санитарно-гигиеническими нормами, что позволяет не исключать их из технологического процесса.

Использование клеточных технологий может являться одним из наиболее перспективных подходов в разрешении проблем лечения заболеваний крупного рогатого скота, в том числе копыт животных. Исследования последних лет убедительно свидетельствуют, что мезенхимальные стволовые клетки (МСК) из жировой ткани обладают высоким противовоспалительным и регенерационным потенциалом. Это позволяет рассматривать их в качестве эффективного средства восстановления функционального состояния поврежденных органов и тканей. В совокупности с доступностью источника клеток, простотой выделения, высокой пролиферативной активностью МСК в условиях культуры их применения в регенеративной медицине человека получило бурное и плодотворное развитие. Эффективность и безопасность применения МСК подтверждена многочисленными литературными данными и работами белорусских ученых, разработавших на данный момент более 15 клеточных технологий лечения различных заболеваний человека [4, 5, 6].

Клеточная терапия набирает все боль-

шую популярность в ветеринарии [13, 14]. Наиболее часто стволовые клетки используются в клинической ветеринарной медицине для лечения опорно-двигательного аппарата после травм у лошадей и собак. Несколько реже разрабатываются способы лечения заболеваний крупного и мелкого рогатого скота. Лечение МСК потенциально может сократить время восстановления крупного рогатого скота и уменьшить экономические потери, связанные с заболеваниями копыт, сокращая время на восстановление.

Высокий терапевтический потенциал МСК в лечении болезней конечностей крупного рогатого скота основывается также на особенностях данных клеток стимулировать процессы васкуляризации и восстановления поврежденных тканей.

До настоящего момента исследования по использованию клеточных технологий при лечении заболеваний копыт крупного рогатого скота в Республике Беларусь не проводились. В имеющейся научной литературе также отсутствуют сведения о результатах исследований по данной тематике в Российской Федерации и странах дальнего зарубежья. Таким образом, разработка клеточной технологии использования МСК для лечения болезней конечностей крупного рогатого скота является инновацией, соответствующей мировому уровню.

Исследования были проведены на базе РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», Минского мясокомбината, фермы Строчица ОАО «Щомыслица».

Жировую ткань крупного рогатого скота получали от убойных животных в условиях Минского мясокомбината, с соблюдением правил антисептики, от бычков черно-пестрой породы в возрасте 16–18 месяцев из благополучных по инфекционным и инвазионным болезням хозяйств.

Материалом для отбора служил подкожный жир. Забор жировой ткани осуществляли не позднее 30 минут после убоя

стерильными инструментами в стерильную посуду. Поверхность жировой ткани на месте разреза прижигали нагретым шпателем и делали глубокий надрез скальпелем, извлекая стерильным пинцетом жировую ткань. Биоптат предварительно помещали на 30 секунд в 70%-ный этиловый спирт, обеспечивающий стерильность и функциональность биоматериала, а затем – в стерильные флаконы с фосфатно-буферным раствором с добавлением антибиотиков (пенициллин 200 мкг на мл, стрептомицин 200 мкг на мл).

Для выделения МСК биоптат жировой ткани доставляли в ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси» в течение часа от времени эксплантации, в контейнере при температуре 4 °С. С целью проверки на стерильность отобранную жировую ткань крупного рогатого скота доставляли в отдел культур клеток РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». Стерильность отобранных образцов оценивалась по отсутствию видимых изменений в образцах, характерных для контаминации микроорганизмами, а также посевами на селективные бактериологические питательные среды (МПА, МПБ, среда Китта-Тароцци и среда Сабуро) в течение 2–3 недель наблюдения.

Жировую ткань отмывали от кондиционированной среды в растворе фосфатно-солевого буфера (ФСБ), содержащего антибиотики, добавляли 0,1%-ный раствор коллагеназы и инкубировали при постоянном перемешивании в течение 60 мин при температуре 37 °С. Затем содержимое флаконов нейтрализовали добавлением ФСБ, содержащего также 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС). После этого клеточную суспензию центрифугировали при 370 g в течение 10 мин, удаляли супернатант, осадок, состоящий из стромально-васкулярной фракции, заливали ростовой средой (DMEM, содержащей 10 % ЭТС, 2 mM L-глутамин, 0,01 мл базового раствора комплексного антибиотика-антимикотика). Клетки высевали в количестве 8×10^5 кл/мл. Культивирование клеток про-

водили в одноразовых пластиковых чашках Петри диаметром 35 мм или культуральных флаконах для адгезионных культур («Sarstedt», Германия) в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С во влажной атмосфере при постоянном давлении 5 % CO₂.

Полную смену ростовой среды проводили первый раз через 24 ч, а затем – каждые 72 ч. МСК пассировали после достижения конfluenceности монослоя клеток 80–90 %. Для этого монослой промывали стерильным ФСБ и обрабатывали 0,25%-ным раствором трипсин-ЭДТА в течение 1–3 мин при температуре 37 °С. Трипсин инактивировали 3 % ЭТС. После двукратного промывания с использованием центрифугирования определяли титр жизнеспособных клеток.

Морфологические характеристики клеток определяли методом фазово-контрастной микроскопии с применением инвертированного микроскопа «Olympus CKX41» (Япония). Жизнеспособность клеток оценивали в камере Горяева путём окрашивания 0,04%-ным раствором трипанового синего (0,01 мл раствора на 0,01 мл суспензии клеток) с подсчётом окрашенных и неокрашенных (жизнеспособных) клеток.

Иммунофенотип МСК определяли с использованием моноклональных антител к CD44, CD90 и CD45 на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson, США).

Среды и растворы стерилизовали фильтрованием через нитроцеллюлозные фильтры с диаметром пор 0,22 мкм («Sarstedt», Германия).

Накопленную биомассу МСК криоконсервировали в криопротекторной среде, содержащей 45 % среды DMEM, 45 % ЭТС и 10 % ДМСО. Замораживание клеток проводили с помощью программируемого криозамораживателя «Cryologic CL8800i». Согласно программе, образцы выдерживались при температуре 5,5 °С в течение 10 мин, далее охлаждались до температуры минус 120 °С со скоростью 1 °С в мин.

Испытание клеточного трансплантата на животных с заболеваниями копытцев проводили на клинически больных коровах в условиях фермы Строчица ОАО «Щомыслица» Минского района.

Эффективность выздоровления оценивали по динамике сокращения язвенного дефекта и течению раневого процесса, а также состоянию окружающих тканей (отек, гиперемия). Критериями эффективности служили сроки образования грануляционной ткани, уменьшение болезненности и эпителизация раневого дефекта. Течение патологического процесса и степень заживления раны оценивали путем клинических исследований, при этом следили за характером выделяемого экссудата, макроскопическим методом определяли степень развития в ране грануляционной ткани. За животными вели клиническое наблюдение на 3-и, 7-е, 14-е, 21-е, 25-е сутки, т.к. это время наиболее информативно для получения клинической картины регенеративного процесса.

Для проведения клинических испытаний в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» из ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», по акту передачи с аналитическим паспортом, была передана культура МСК жировой ткани крупного рогатого скота.

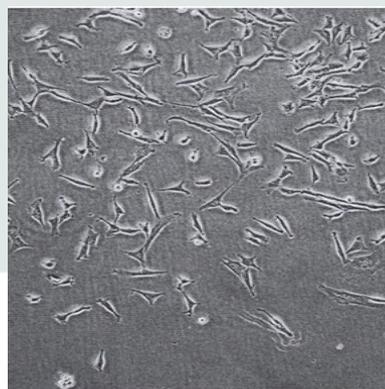
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Характеристика процесса культивирования МСК и параметров полученной культуры. Для получения МСК использовали биоптат подкожного жира в области хвоста. Метод получения МСК заключался в выделении стромально-васкулярной фракции и селекции данных клеток при последующем культивировании за счет их способности адгезировать на пластике. Было установлено, что использование 0,1 % коллагеназы в течение 60 мин приводит к дезагрегации жировой ткани и выходу клеток в среду, при этом количество жизнеспособных клеток составило более 90 %.

Культивирование клеток проводили в течение 30–35 суток со сменой ростовой питательной среды каждые 3-е суток.

На 5-е сутки в культуре появились клетки вытянутой формы, некоторые из них имели треугольную или полигональную форму, размер более 40 мкм, более крупное ядро и располагались на большом расстоянии друг от друга.

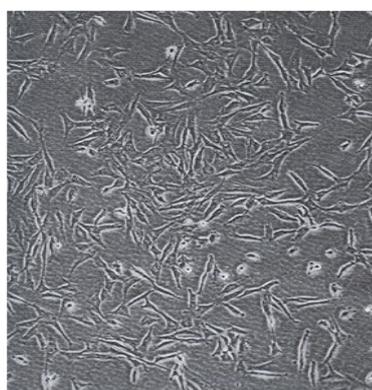
На 10-е сутки роста культуры в клетках при дополнительном увеличении ($\times 400$) отчетливо было видно ядро с ядрышком, гомогенная цитоплазма. Размер данных клеток варьировал от 20 до 40 мкм, они делились и начинали образовывать колонии (рисунок 1).



Увеличение $\times 100$

Рисунок 1. – Морфология МСК из жировой ткани крупного рогатого скота на 10-е сутки культивирования

На 17-е сутки роста в культуре были видны колонии, образованные клетками, имеющими фибробластоподобную форму (рисунок 2).

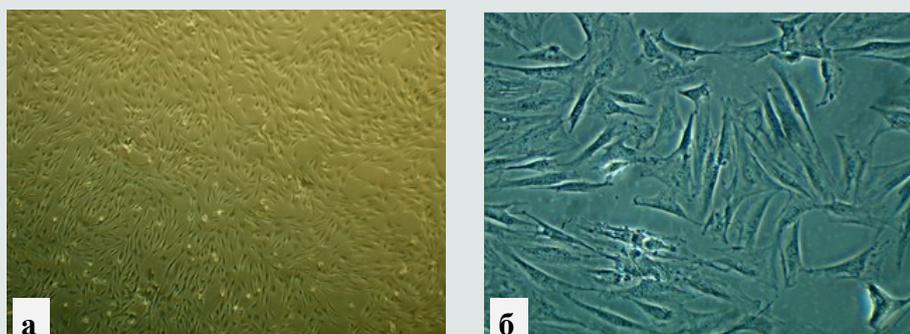


Увеличение $\times 100$

Рисунок 2. – Морфология МСК из жировой ткани крупного рогатого скота на 17-е сутки культивирования

На 20-е сутки культивирования образовывался монослой клеток с конfluenceностью 90 %. После пассирования культура МСК жировой ткани к 30–35-м суткам культивирования была представлена в основном гомогенной популяцией фибробластоподобных веретеновидных клеток (рисунк 3). Клетки были протестированы на

наличие типичных для МСК белковых маркеров. Результаты иммунофенотипирования показали, что в культурах преобладали клетки, экспрессирующие такие маркеры, как CD44 (>95 %) и CD90 (>90 %), тогда как количество клеток, экспрессирующих маркер гемопоэтических клеток CD45, было незначительным (<1,5 %).



Увеличение: а – $\times 40$, б – $\times 200$

Рисунок 3. – Образование монослоя в культуре МСК второго пассажа, полученной из жировой ткани крупного рогатого скота

В результате из биоптата подкожного жира крупного рогатого скота получена культура клеток с высокой адгезивной способностью, образующих монослой и обладающих высокой клоногенностью и пролиферативной активностью.

Применение МСК жировой ткани для лечения гнойно-некротических болезней копытец крупного рогатого скота. Подготовленные клеточные культуры для инъекций подвергались типологическому, микробиологическому и вирусологическому тестированию и переданы в герметичной стерильной упаковке (рисунк 4).



Рисунок 4. – Инъекционный препарат на основе МСК жировой ткани крупного рогатого скота

С целью определения эффективности МСК жировой ткани для лечения крупного рогатого скота была сформирована группа из 10 животных с заболеваниями копытец. Животные отбирались по принципу условных аналогов (с явно выраженными клиническими признаками): хромота разной степени, отведение конечности в сторону (снимается нагрузка с пораженного копытца), повышенная местная температура, наличие патологического очага, покраснение и др.

Контрольную группу составили 10 коров с поражениями копытец и пальца, которым ветеринарными специалистами оказывалась лечебная помощь препаратами INTRA HOOF-FIT или Klauengel Premium в соответствии со схемой лечения, принятой в данном хозяйстве.

Всем животным перед проведением эксперимента провели обязательную тщательную механическую очистку дистальных отделов конечностей, функциональную расчистку копытец, полное удаление омертвевших тканей и разросшихся патологических грануляций. После расчистки проводили обработку язвенного очага (3%-ным раствором перекиси водорода). Язвенный очаг осушался стерильными салфетками (рисунк 5).



Рисунок 5. – Механическая расчистка копыт и пальцев

Суспензию МСК в ФСБ вводили коровам в область свода кожи межпальцевой щели возле зоны поражения. Введение осуществляли инъекцией клеточного препарата объемом 4 мл, содержащего 10×10^6 МСК. Во время опыта за животными вели клинические наблюдения. Дополнительное лечение коров опытной группы не проводилось.

После введения суспензии МСК на обработанное копыто накладывалась антисептическая повязка, которая обеспечивала защиту раны и пересаженной культуры клеток от инфицирования.

Животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания, в чистом помещении с сухим полом и мягкой подстилкой.

Результаты исследований показали, что у всех больных коров до лечения отмечалось угнетение общего состояния, понижение пищевой возбудимости и реакции на окружающую обстановку. Дыхание и пульс были учащены. При передвижении у животных отмечалась выраженная хромота опорного типа. При клиническом осмотре диагностировались язвы пальца с выраженной воспалительной реакцией окружающих тканей, которые были отечными, болезненными, с наличием очагов некроза.

Исследование динамики выздоровления подопытных животных по сравнению с контролем показало, что у коров опытной группы на 7-е сутки уменьшились раз-

меры раневого дефекта, и поверхность раны заполнялась грануляционной тканью, животные более уверенно опирались на больную конечность. К 14-м суткам вся поверхность раневого дефекта покрылась здоровой мелкозернистой грануляционной тканью розового цвета (рисунки 6, 7), у двух животных большая часть раны покрылась струпом. Патологический очаг уменьшался за счет активного роста эпидермального ободка. Общее состояние всех животных группы улучшилось, наблюдалась незначительная хромота. Животные не отводили ногу в сторону и полностью опирались на пораженную конечность. К 21-м суткам после начала лечения на месте язвы сформировалась молодая эпителиальная ткань. У животных с поражениями копыт наступило полное клиническое выздоровление.



Рисунок 6. – Введение МСК ЖТ в область раневого повреждения копыт животных опытной группы



Рисунок 7. – Раневое повреждение копытец животных опытной группы на 14-е сутки после клеточной терапии

У животных контрольной группы с местным применением гелей и мазей по сравнению с опытной через 14 суток после лечения размеры дефекта патологического очага лишь слегка уменьшились (рисунки 8, 9). Болезненность сохранена, животные с осторожностью опирались на больную конечность и были повторно подвергнуты лечению. У трех коров к 21-м суткам хромота исчезла, остальным было проведено дополнительное лечение. Клиническое выздоровление животных данной группы наступило на 25–28-е сутки.



Рисунок 8. – Раневое повреждение копытец животных контрольной группы, обработанное препаратом INTRA HOOF-FIT



Рисунок 9. – Раневое повреждение копытец животных контрольной группы на 14-е сутки после лечения препаратом INTRA HOOF-FIT

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований отработана технология отбора жировой ткани в условиях мясокомбината, методы выделения из жировой ткани МСК и их культивирования. Показано, что МСК, полученные из биоптатов подкожной жировой клетчатки крупного рогатого скота, обладают высокой адгезивностью, клоногенностью и пролиферативной активностью, формируют монослой гомогенной популяции клеток с фибробластоподобной морфологией.

Результаты проведенных клинических исследований свидетельствуют о том, что применение МСК жировой ткани крупного рогатого скота для лечения животных с гнойно-некротическими заболеваниями копытец и пальца ускоряет в очаге поражения образование здоровой грануляционной ткани и на 5–8 суток сокращает сроки заживления раневых дефектов у коров с заболеваниями копытец по сравнению с использованием базовых лечебных препаратов, применяемых в молочном скотоводстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. Болезни конечностей у коров в условиях молочных комплексов, профилактика, лечение / А. Н. Елисеев [и др.] // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2015. – № 9. – С. 124–132.
2. Болезни пальцев и копытец у коров их профилактика и лечение / Д. А. Хузин [и др.] // Ветеринарный врач. – 2014. – № 5. – С. 24–28.
3. Волотко, И. И. Профилактика и лечение эндогенного кормового травматизма у коров / И. И. Волотко, А. И. Безин, Н. И. Бутакова // Известия ОГАУ. – 2014. – № 6 (50). – С. 34–42.
4. Волотовский, И. Д. Стволовые клетки: перспективы развития клеточных технологий / И. Д. Волотовский, Е. С. Лобанок, Е. Н. Лойко // Наука и инновации. – 2011. – № 1 (95). – С. 17.
5. Клеточные технологии в лечении пациентов с рецессией десны / С. П. Рубникович [и др.]. – Минск : Беларуская навука, 2019. – 199 с.
6. Клинические возможности применения аутогенных мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани при лечении пациентов с трофическими язвами нижних конечностей / Е. В. Баранов [и др.] // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2013. – Т. VIII, № 2. – С. 78–83.
7. Методические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике некробактериоза, пальцевого дерматита и болезней копытец крупного рогатого скота незаразной этиологии / Д. А. Хузин [и др.] / Министерство сельского хозяйства Российской Федерации. – М. : Минсельхоз России, 2017. – 41 с.
8. Мистейко, М. Системный подход к профилактике болезней конечностей крупного рогатого скота / М. Мистейко, А. Лемеш // Ветеринарное дело. – 2013. – № 1. – С. 19–20.
9. Организация сельскохозяйственного производства: учеб. пособие / Н. С. Яковчик, Н. Н. Котковец, П. И. Малихтарович; под общ. ред. проф. Н. С. Яковчика. – Минск : ИВЦ Минфина, 2016. – 598 с.
10. Руколь, В. М. Активный моцион – здоровые копыта / В. М. Руколь // Белорусское сельское хозяйство. – 2015. – № 1 (153). – С. 35–39.
11. Johann Kofler Pathogenesis and Treatment of Toe Lesions in Cattle Including «Nonhealing» Toe Lesions // Vet.Vet. Clin. Food Anim. – 2017. – Vol. 33. – С. 301–328.
12. Estimating the value of infectious or noninfectious foot disorder prevention strategies within dairy farms, as influenced by foot disorder incidence rates and prevention effectiveness / K. A. Dolecheck [et al.] // Journal of Dairy Science. – Vol. 102. – Issue 1. – P. 731–741.
13. Fortier, L. A. Stem cells in veterinary medicine / L. A. Fortier, A. J. Travis // Stem Cell Res. Ther. – 2011. – V. 2. – P. 9.
14. Applications of mesenchymal stem cell technology in bovine species / A.B.T. Hill [et al.] // Stem Cell Res. Ther. – 2019. – Vol. 10. – P. 44.
15. Implantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells demonstrates improved outcome in horses with overstrain injury of the superficial digital flexor tendon / E. E. Godwin [et al.] // Equine Vet. J. – 2012. – Vol. 44. – P. 25–32.

наша продукция



Андруевич А.С., кандидат ветеринарных наук, доцент
Красникова Е.Л., научный сотрудник
Мальчик О.В., научный сотрудник
Стрельчя И.И., кандидат ветеринарных наук, доцент
Мистейко М.М., кандидат ветеринарных наук, доцент

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

ВЫДЕЛЕНИЕ И СЕРОТИПИЗАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ АКТИНОБАЦИЛЛЯРНОЙ ПЛЕВРОПНЕВМОНИИ ОТ ПОРОСЯТ С РЕСПИРАТОРНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Резюме

В статье приведены данные по выделяемым из респираторного тракта поросят с признаками бронхопневмонии микроорганизмам, их морфологические характеристики и серотипизация. Установлено, что в 15,9 % случаев из патологического материала выделяется *Actinobacillus pleuropneumoniae* серотипов 2, 3, 5, 6, 9, 10. В 50 % случаев выделен возбудитель актинобациллярной пневмонии серотипов 2, 6.

Частота выделения *Actinobacillus pleuropneumoniae* из исследуемого материала в разрезе хозяйств несколько различалась. Наиболее часто возбудитель выделялся из патматериала хозяйств Минской области (40 %), тогда как в одном из хозяйств Гродненской области возбудитель выделялся только в 16,3 % случаев.

Summary

The article presents data on microorganisms isolated from the respiratory tract of piglets with signs of bronchopneumonia, their morphological characteristics and serotyping. It was found that in 15.9 % of the pathological material *Actinobacillus pleuropneumoniae* of serotypes 2, 3, 5, 6, 9, 10 is excreted. In 50 % of cases, the causative agent of actinobacillary pneumonia of serotypes 2, 6 was isolated.

The frequency of isolation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* from the studied material in the context of farms was slightly different. Most often, the pathogen was isolated from the material of farms in the Minsk region 40 %, respectively, whereas in one of the farms of the Grodno region, the pathogen was isolated only in 16.3 % of cases.

Поступила в редакцию 22.05.2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

На респираторную патологию приходится до 90 % всего производственного выбытия в свиноводстве. Исследования зарубежных ученых показывают, что доля болезней органов дыхания составляет в среднем 35–40 %. Как правило, пневмонии возникают чаще всего в послетельный период и имеют полиэтиологическое происхождение. Чаще всего выделяют вирусные агенты (возбудители репродуктивно-респираторного синдрома, гриппа свиней, парвовирусной болезни, коронавируса свиней, а также болезни Ауески) и бактериальные агенты (возбудители актинобациллярной плевропневмонии, гемофиллезного полисерозита, инфекционного атрофического ринита, пастереллеза и т.п.), а также микоплазмы, риккетсии, грибы и гельминты [2].

Отечественными и зарубежными исследователями накоплен огромный фактический материал о роли вирусов, хламидий, микоплазм и других бактерий, а также их ассоциаций в возникновении респираторных патологий у животных [1, 3, 4, 5, 6, 7]. Вместе с тем многие аспекты этой проблемы требуют еще обстоятельного изучения. Так, в последние годы внимание многих исследований обращено на изучение актинобациллярной плевропневмонии, впервые зарегистрированной и описанной P.R. Mettews, L.H. Pattison в 1961 году.

Актинобациллярная плевропневмония свиней (АПП) – инфекционное контактно-заболевание, которое характеризуется при остром течении геморрагическим воспалением лёгких и фибринозным плевритом, а при подостром и хроническом –

развитием очагово-гноной некротической плевропневмонии и фибринозным плевритом.

В настоящее время эта болезнь регистрируется практически во всех странах с развитым промышленным свиноводством и наносит отрасли большой экономический ущерб. Отход поросят отъемного возраста в отдельных хозяйствах достигает 100 %.

О наличии плевропневмонии в свиноводческих хозяйствах Республики Беларусь имеются единичные сообщения [1, 2]. Такие вопросы, как степень распространения этой болезни, интенсивность инфекционного процесса, этиология и серотиповой состав возбудителя пневмонии, остаются невыясненными. Кроме того, неотложного решения требуют вопросы разработки средств профилактики и мер борьбы с этой болезнью.

Цель работы – выделение и серотипизация возбудителя актинобациллярной плевропневмонии от поросят с респираторной патологией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследований из 6 свиноводческих хозяйств 3 областей Республики Беларусь нами отбирались пробы патологического материала от поросят до 20-дневного, 55–70-дневного, 90–100-дневного возраста с признаками респираторной патологии. Свежий патологический материал от павших и убитых с диагностической целью свиней высевали на сывороточно-дрожжевой агар и бульон. Чашки с посевами помещали в термостат, выдерживали при температуре 37 °С в течение 24 ча-

сов. Затем проводили оценку морфологических свойств выросших колоний с последующей микроскопией. Мазки окрашивали по Граму набором красителей фирмы Fluka (США). Вирулентные свойства выделенных культур определяли путем заражения белых мышей массой 18–20 г внутрибрюшинно в дозе 0,5 мл. Вирулентными считали культуры, вызывающие гибель 100 % мышей.

Серологическую идентификацию выделенных культур возбудителя актинобациллярной плевропневмонии проводили с помощью набора лиофилизированных сывороток MRI-APP (Франция) согласно прилагаемой инструкции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При первичных посевах патологического материала на питательные среды установлено, что в большинстве случаев колонии полиморфны и неоднородны, поэтому для дальнейшего изучения нами проводился рассев на чашки Петри выросших культур с последующей микроскопией мазков, окрашенных по Граму.

При анализе результатов бактериологического исследования было выделено 132 патогенные культуры, которые далее были идентифицированы в 26,5 % случаях как штаммы *Pasteurella multocida*, в 15,9 % – *Actinobacillus pleuropneumoniae*, в 12,1 % – *Salmonella cholerae suis*, в 11,4 % – *Streptococcus suis*, в 12,0 % – *Haemophilus parasuis*, в 7,6 % – *Diplococcus pneumoniae*, в 10,0 % – *Bordetella bronchiseptica*, в 4,5 % – *Pseudomona aeruginosa* (таблица 1).

Таблица 1. – Патогены, выделенные при бактериологическом исследовании проб патологического материала (легких) от поросят с признаками бронхопневмонии

Название микроорганизмов	Патогены, выделенные при бактериологическом исследовании, %
<i>Pasteurella multocida</i>	26,5
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	15,9
<i>Salmonella cholerae suis</i>	12,1
<i>Haemophilus parasuis</i>	12
<i>Streptococcus suis</i>	11,4
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	10
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	7,6
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	4,5

Согласно полученным результатам, *Actinobacillus pleuropneumoniae* занимает второе место среди бактериальных инфекционных агентов, которые были выделены нами из патматериала. По данным других исследователей, такое положение наблюдается на протяжении последних лет (Романова Л.Я., 1990, А.В. Букин, 1996 и др.).

Для выделения чистой культуры *Actinobacillus pleuropneumoniae* проводили микроскопию мазков из отдельных колоний, выросших на агаре. Для посева отбирались колонии в мазках, в которых обнаруживались мелкие грамтрицательные коккобактерии, расположенные одиночно или представленные в виде очень мелких кокковидных палочек.

Такие колонии при пересеве на сывороточно-дрожжевой МПА вырастали через 10–12 часов, имели правильную округлую

форму, ровные края, серо-белый цвет, немного выпуклую поверхность, вязкую консистенцию. Колонии росли обособленно, равномерно по всей поверхности агара.

В сывороточно-дрожжевом МПБ культуры вызвали легкое помутнение среды, а при хорошем росте культуры на дне пробирки формировался небольшой осадок, легко разбивающийся при встряхивании пробирки.

С целью определения патогенности суспензию выросших культур внутрибрюшинно вводили белым мышам. Нами установлено, что гибель белых мышей происходила в 50–100 % случаев в зависимости от штаммовой принадлежности культуры. Таким образом нами исследована 171 проба из 6 хозяйств Республики Беларусь. Полученные данные объединены в таблице 2.

Таблица 2. – Результаты выделения возбудителя *Actinobacillus pleuropneumoniae* из проб патологического материала

Хозяйство	Исследовано проб	Выделено культур	Процент выделения
Хозяйство 1, Минская область	25	10	40,0
Хозяйство 2, Минская область	20	6	30
Хозяйство 3, Гродненская область	31	5	16,3
Хозяйство 4, Гродненская область	17	5	29,4
Хозяйство 5, Могилевская область	68	23	33,8
Хозяйство 6, Могилевская область	10	3	30
ВСЕГО выделено культур	171	52	30,4

На основании полученных результатов бактериологических, тинкториальных, микроскопических исследований были сделаны выводы, что из патологического материала нами в среднем в 30,4 % случаев выделялся возбудитель АПП.

Согласно литературным данным, возбудитель актинобациллярной плевропневмонии свиней является серовариабельным, поэтому перед нами стояла задача определить, какие серотипы возбудителя доминируют в свиноводческих хозяйствах республики.

Таблица 3. – Результаты бактериологических и серологических исследований проб тканей и сывороток крови, отобранных в хозяйствах на предмет выявления *Actinobacillus pleuropneumoniae* (с 2008 года по настоящее время)

Хозяйство	Выявленный серотип
Хозяйство 1, Минская область	5
Хозяйство 2, Минская область	6, 2
Хозяйство 3, Гродненская область	2, 6
Хозяйство 4, Гродненская область	2
Хозяйство 5, Могилевская область	3
Хозяйство 6, Могилевская область	6, 9, 10

Из таблицы 3 видно, что наиболее часто выявляются серотипы 2 и 6 *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Серотипы 3, 5, 9, 10 выделены нами только в одном из протестированных хозяйств.

Анализ литературных источников и изучение эпизоотических данных свидетельствуют о том, что АПП – сезонное за-

болевание. В одном из хозяйств Республики Беларусь, где ранее выявлялся возбудитель АПП, в течение года нами отбирались пробы легких с характерными изменениями, которые в последующем были подтверждены бактериологическим и микроскопическим исследованиям. Полученные результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4. – Изучение характера возникновения инфекционного процесса, вызванного возбудителем АПП

Период года	Количество исследований	Количество положительных проб	Процент положительных проб
Январь-февраль	20	6	30
Март-май	22	11	50
Июнь-сентябрь	8	0	0
Октябрь-ноябрь	18	9	50

Согласно полученным нами результатам, наибольшее количество положительных проб выделялось в период март-май и октябрь-ноябрь – по 50 % соответственно, а наименьшее – в летний период (0). Полученные результаты коррелируют с результатами литературных данных и более ранних исследований, проведенных на территории Республики Беларусь.

Кроме того, исследования периода 2016–2020 гг. в этом же хозяйстве показали цикличность выявления возбудителя с интервалом 2,5 года. Так, при первичном (2016 год) исследовании патологического материала (катаральная бронхопневмония) нами был выделен возбудитель *Actinobacillus pleuropneumoniae* от поросят в возрасте 60–90 дней (4 положительных пробы из 10). Исследования, проводимые в 2018 году, указывали на отсутствие возбудителя, а исследования 2020 года снова выявляли возбудителя в пробах патологического материала (7 из 10). Данные результаты не противоречат литературным данным и указывают на персистенцию возбудителя в хозяйстве.

Изучение возрастного спектра заболевания АПП показало, что у поросят в возрасте до 20 дней *Actinobacillus pleuropneumoniae* выделялся только в 5 % случаев, в возрасте 32–50 дней – в 59 % случаев, в возрасте 110 дней и старше, а также у взрослых свиноматок возбудитель АПП не выделялся.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Респираторная патология у поросят имеет полиэтиологическую природу. При проведении бактериологических исследований из патологического материала в 26,5 % случаях выделяются *Pasteurella multocida*, в 15,9 % – *Actinobacillus pleuropneumoniae*, в 12,1 % – *Salmonella cholerae suis*, в 11,4 % – *Streptococcus suis*, в 12 % – *Haemophilus parasuis*, в 7,6 % – *Diplococcus pneumoniae*, в 10,0 % – *Bordetella bronchiseptica*, в 4,5 % – *Pseudomona aeruginosa*.

2. Из патологического материала от поросят с признаками респираторной патологии в 15,9 % выделяется *Actinobacillus pleuropneumoniae* серотипов 2, 3, 5, 6, 9, 10. В 50 % случаев выделяется возбудитель актинобациллярной пневмонии серотипов 2, 6.

3. Результаты тинкториально-морфологических и серологических свойств культур дают основание сделать вывод, что в хозяйствах Республики Беларусь нами выделены бактерии рода *Actinobacillus*, вызывающие плевропневмонию свиней. Выделенные изоляты патогенны для белых мышей, вызывают их гибель в 50–100 % случаев.

4. *Actinobacillus pleuropneumoniae* наиболее часто выделяется у поросят в возрасте от 30 до 90 дней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андросик, Н. Н. Диагностика, профилактика и меры борьбы с гемофилезами свиней: методические рекомендации / Н. Н. Андросик. – Минск, 1990. – 16 с.
2. Андросик, Н. Н. Профилактика пневмонии свиней / Н. Н. Андросик. – Минск : Ураджай, 1989. – 159 с.
3. Панасенко, А. С. Экономический ущерб от респираторных болезней свиней / А. С. Панасенко // Ветеринария: межвед. сб. – Киев, 1975. – Вып. 42. – С. 50–64.
4. Притулин, П. И. Профилактика заболеваний свиней в специализированных хозяйствах / П. И. Притулин // Ветеринария. – М.: Колос, 1970. – № 2. – С. 4–7.
5. Сидоров, М. А. Специфическая профилактика гемофилезной плевропневмонии свиней / М. А. Сидоров // Ветеринарные проблемы пром. свиноводства. – Киев, 1983. – № 4. – С. 102–106.
6. Amano, H. Serotype and drug susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolated from the nasal cavities of clinically healthy pigs / H. Amano, N. Kajio, M. Shibata // J. Japan Veter. Med. Assn. – 1989. – Vol. 8, № 3. – P. 179–183.
7. Christensen, G. Pleuropneumoniae hos svin fremkaldt af *Haemophilus leuropneumoniae* para-haemoliticus / G. Christensen // Nend. Veter.-Med. – 1981. – Bd. 33, № 3. – S. 121–133.

УДК 619:578/.615.37:636.22/28.053.2

Струк М.С., старший научный сотрудник

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

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА В ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ, ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ИММУНИТЕТА И ОБМЕННЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ВИРУСНЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЯХ И ПНЕВМОЭНТЕРИТАХ ТЕЛЯТ

Резюме

Дана оценка распространения вирусных респираторных болезней и пневмоэнтеритов телят и их влияния на основные показатели крови животных. Представлены результаты применения препарата на основе наночастиц цинка «Иммунонаноцинк» в производственных условиях.

Summary

An assessment of the spread of viral respiratory diseases and pneumoenteritis in calves and their impact on the main blood parameters of animals is given. The results of application of the drug based on nanoparticles of zinc «Immunoenhancing» in a production environment.

Поступила в редакцию 21.05.2020 г.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день широкое распространение вирусных респираторных инфекций и пневмоэнтеритов телят наносит ощутимый экономический ущерб животноводству. Он обусловлен снижением среднесуточных привесов живой массы, затратами на лечение и профилактику болезней, падежом телят и т.д. При этом из-

вестно, что переболевание телят сопровождается глубокими изменениями в состоянии иммунитета и обмена веществ.

В связи с этим разработка новых средств и методов лечения с использованием наночастиц металлов для профилактики и терапии респираторных инфекций и пневмоэнтеритов телят становится актуальной, как и изучение их воздействия на им-

мунную систему животных. И в этом отношении перечень проблем, которые могли бы быть решены с помощью нанотехнологий, достаточно широк [1, 2].

Разработанный нами ветеринарный препарат «Иммунонаноцинк» предназначен для профилактики и терапии вирусных респираторных болезней и пневмоэнтеритов телят. Основным действующим компонентом препарата является цинк в количестве 50 мкг/см³, а в качестве стабилизирующего вещества используется микрокристаллическая целлюлоза.

Нами проведены исследования по изучению роли вирусов в распространении данных заболеваний, их влияния на иммунитет и метаболизм животных. Проанализировано влияние препарата «Иммунонаноцинк» на гематологические и биохимические показатели организма больных телят, а также проведены производственные испытания данного препарата.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диагноз на вирусные инфекции устанавливали ретроспективно с использованием серологических тестов по анализу сероконверсии антител у животных в начале заболевания и через 14 дней. Наличие антител выявляли с помощью реакции непрямой геммагглютинации (РНГА).

Для изучения клеточного и гуморального иммунитета при вирусных респираторных инфекциях и пневмоэнтеритах были обследованы телята в возрасте 1,5–4 месяцев различного клинического состояния: больные респираторными заболеваниями и клинически здоровые. Для выделения лимфоцитов из крови использовали метод дифференциального центрифугирования в градиенте различной плотности. Для идентификации Т-лимфоцитов использовали метод розеткообразования.

Фагоцитарную активность лимфоцитов и фагоцитарное число определяли методом, основанным на явлении фагоцитоза – реакции организма, проявляющейся в способности клеток-фагоцитов захватывать и переваривать чужеродные микроорганизмы [3].

Лизоцимную активность сыворотки крови определяли по нефелометрическому методу Дорофейчука (1968) [4].

Бактерицидную активность сыворотки крови определяли по методу Смирновой О.В. и Кузьминой Т.В. [5].

Биохимическое исследование сыворотки крови проводили на автоматическом биохимическом анализаторе. При проведении исследований учитывали следующие показатели: общий белок, альбумин, глобулины, альбумино-глобулиновое соотношение, мочевины, креатинин, глюкозу, холестерин, триглицериды, общий билирубин, щелочную фосфатазу, АСТ, АЛТ, кальций, фосфор, Са/Р, магний.

Для расчета лечебной эффективности в хозяйствах по принципу аналогов было сформировано 2 группы больных телят в возрасте от 15 дней до 3 месяцев. Телятам опытной группы (ОГ) внутримышечно вводили препарат «Иммунонаноцинк» в дозе 5 мл один раз в день от 3 до 5 дней до выздоровления. Препарат применялся в комплексе с симптоматическими и антибактериальными средствами. Телята контрольной группы (КГ) были подвергнуты лечению по схеме, принятой в хозяйствах.

Для определения профилактической эффективности в хозяйствах по принципу аналогов было сформировано по 2 группы здоровых телят в возрасте от 15 дней до 3 месяцев. Животным опытной группы внутримышечно вводили препарат «Иммунонаноцинк» в дозе 5 мл один раз в день 2-3 дня. Телята контрольной группы были подвергнуты профилактическим обработкам по схеме, принятой в хозяйствах.

Экономическую эффективность оценивали в соответствии с методическим пособием «Определение экономической эффективности мероприятий в ветеринарной медицине», утвержденным ГУВ с Государственной ветеринарной и Государственной продовольственной инспекциями Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 12.05.2009 г. [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе изучения эпизоотического процесса в неблагополучных по вирусным респираторным инфекциям и пневмоэнтеритам хозяйствах установлено, что наиболее восприимчивыми являются телята, возраст которых не превышает 30–45 дней. Основным источником возбудителя болезни являются больные и переболевшие животные. Среди молодняка заболевших телят насчитывается приблизительно 30 %. Непроизводительное выбытие, по нашим

данным, составляет от 15 до 30 % от количества заболевших животных. Среди телят респираторные болезни регистрируются, как правило, стационарно и не имеют выраженной сезонности.

Для установления роли вирусов в патологии органов дыхания было исследовано 130 парных сывороток крови больных и переболевших респираторными болезнями телят 1–4-месячного возраста из 16 хозяйств и 160 парных сывороток крови клинически здоровых животных (таблица 1).

Таблица 1. – Результаты сероконверсии антител к вирусам ИРТ, ВД и ПГ-3 телят при ретроспективном анализе парных проб сывороток крови

Клинический статус телят	Кол-во исследованных парных проб / кол-во животных	Выявлено проб с сероконверсией / %		
		ИРТ	ВД	ПГ-3
Больные респираторными заболеваниями	130/65	40/61,5	32/49,2	57/87,7
Клинически здоровые	160/80	8/10	12/15	18/22,5

Результаты, приведенные в таблице 1, свидетельствуют о том, что в этиологии респираторных инфекций телят существенную роль играют вирусы инфекционного ринотрахеита, диареи и парагриппа-3 крупного рогатого скота. При этом наиболее частой причиной развития респираторной патологии выступал вирус парагриппа-3 (87,7 % животных, у которых установлена сероконверсия), на втором месте – вирус инфекционного ринотрахеита (61,5 %), на третьем – вирусной диареи (49,2 %). Однако сероконверсия отмечена и у клинически

здоровых телят (соответственно, 22,5 %, 15 % и 10 %), что свидетельствует о бессимптомном течении инфекционной болезни или проведенной вакцинации.

Для оценки состояния иммунитета и обменных процессов организма телят при респираторных инфекциях нами были обследованы животные в возрасте 1–4 месяцев различного клинического состояния (больные респираторными заболеваниями и клинически здоровые). Всего обследовано по 10 животных в каждой группе.

Таблица 2. – Показатели клеточного и гуморального иммунитета у телят различного клинического состояния при респираторных инфекциях и пневмоэнтеритах

Показатели	Больные телята	Клинически здоровые
Лимфоциты, %	46,6±1,49	65,7±1,79
Т-лимфоциты, %	24,3±1,32	37,1±1,02
В-лимфоциты, %	14,1±0,78	18,9±0,87
Фагоцитарная активность, %	39,5±2,41	70,3±3,35
Фагоцитарное число, %	2,36±0,22	5,00±0,17
Лизоцимная активность сыворотки крови, мкг/мл	0,75±0,13	2,89±0,19
Бактерицидная активность сыворотки крови, %	38,3±4,5	68,1±2,77

Результаты проведенных нами исследований (таблица 2) показывают, что у телят с клиническим проявлением данных заболеваний количество лимфоцитов на 29,07 % ниже, количество Т-лимфоцитов – на 34,5 %, а В-лимфоцитов – на 25,4 % по сравнению со здоровыми животными. Установлено, что у больных телят фагоцитарная активность ниже на 43,81 %, а фагоцитарное число – в 2,11 раза по отношению к здоровым. Лизоцимная активность у больных телят ниже в 3,85 раза, а бактерицидная активность – на 43,7 %, чем у здоровых.

Таким образом, результаты, полученные в ходе оценки клеточного и гуморального звеньев иммунитета телят с клиническим проявлением вирусных респираторных инфекций и пневмоэнтеритов, показывают, что переболевание приводит к значительному угнетению основных звеньев иммунной системы: отмечается уменьшение количества Т- и В-лимфоцитов, снижение фагоцитарной активности лейкоцитов, бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови.

Данные заболевания также оказывают негативное влияние на неспецифическое гуморальное звено иммунитета (таблица 3).

Таблица 3. – Показатели гуморального иммунитета у телят, больных респираторными инфекциями и пневмоэнтеритами

Показатели	Больные телята	Клинически здоровые телята
Общий белок, г/л	57,12±2,59	76,13±6,13
Альбумин, г/л	35,08±1,85	40,12±2,38
Глобулины, г/л	21,89±4,48	36,84±7,39
А/Г-соотношение	1,55±0,14	1,22±0,07

Анализ полученных данных (таблица 3) показал, что у больных вирусными респираторными инфекциями и пневмоэнтеритами телят отмечается снижение концентрации общего белка на 24,97 %, альбуминов сыворотки крови – на 12,56 %, иммуноглобулинов – на 40,58 %, что свидетельствует об угнетении иммунного ответа.

Имеющиеся результаты свидетельствуют о значительных изменениях в иммунной системе телят при вирусных респираторных болезнях.

Наряду с угнетением факторов иммунитета, переболевание телят вирусными респираторными инфекциями и пневмоэнтеритами сопровождалось изменениями в их метаболизме (таблица 4).

Таблица 4. – Метаболизм у телят при респираторных инфекциях и пневмоэнтеритах

Показатели	Больные телята	Клинически здоровые телята
Мочевина, ммоль/л	5,17±0,72	4,12±0,23
Креатинин, мкмоль/л	96,37±2,04	75,61±4,73
Глюкоза, ммоль/л	3,69±0,17	5,01±0,29
Холестерин, ммоль/л	2,21±0,17	1,71 ±0,20
Триглицериды, ммоль/л	0,35±0,07	0,23±0,05
Билирубин общий, мкмоль/л	1,87±0,55	0,81±0,26
Щелочная фосфатаза, U/L	235,19±1,97	121,18±20,78
АСТ, U/L	118,51±12,5	69,14±6,51
АЛТ, U/L	19,45±0,53	13,67±1,24
Кальций, ммоль/л	2,4±0,15	4,3±0,16
Фосфор, ммоль/л	4,4±0,19	2,5±0,17
Са/Р	1,65±0,04	2,48±0,09
Магний, ммоль/л	1,8±0,04	3,5±0,05

Исследование показателей обмена веществ у телят различного клинического состояния свидетельствует о тяжести течения болезни (таблица 4). Приведенные данные показывают, что при вирусных респираторных инфекциях и пневмоэнтеритах отмечаются существенные нарушения в содержании низкомолекулярных азотистых веществ (мочевины, креатинина) в сыворотке крови животных. Так, у больных телят мочевины было больше на 25,4 %, чем у здоровых, креатинина – на 27,45 %. Это свидетельствует о том, что в процессе переболевания нарушается выделительная функция почек.

Содержание холестерина у больных телят было на 29,2 % выше, чем у здоровых, а общего билирубина – на 51,47 %.

Отмечается понижение концентрации глюкозы на 26,34 % по сравнению со здоровыми животными, что, возможно, связано с использованием ее как важнейшего энергетического вещества. Концентрация триглицеридов не имеет достоверных отличий как у больных, так и у здоровых телят. Полученные результаты свидетельствуют о поражении печени при вирусных респираторных заболеваниях.

Активность щелочной фосфатазы у больных телят на 94,08 % выше, чем у здоровых, активность аспаратаминотрансферазы – на 71,4 %, аланинаминотрансферазы – на 42,3 %. Важное значение в поддержании гомеостаза организма играют макро- и микроэлементы.

Заболевание телят респираторными инфекциями и пневмоэнтеритами незначительно влияет на обмен калия, кальция, но изменяет концентрацию кальция, фосфора и магния. В сыворотке крови больных кальция регистрируется на 44,2 % меньше, чем у здоровых, фосфора – на 76 %, а магния – на 48,6 % больше.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что вирусные респираторные инфекции и пневмоэнтериты приводят к поражению не только органов дыхания, но и других органов, осложняя тяжесть течения заболевания и вызывая угнетение иммунной системы.

Результаты исследований позволили нам обосновать включение разработанного препарата на основе наночастиц цинка «Иммунонаноцинк» в систему лечебно-профилактических мероприятий при вирусных инфекциях и пневмоэнтеритах телят.

Разработанный препарат безопасен и не оказывает отрицательного влияния на качество животноводческой продукции.

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

Проведена сравнительная оценка методов лечения телят при остром течении данных заболеваний с применением иммуностимулирующего препарата на основе наночастиц цинка «Иммунонаноцинк» и без его использования.

Полученные результаты (таблица 5) свидетельствуют о более высокой лечебной эффективности препарата «Иммунонаноцинк» в сравнении с препаратами, которые входили в традиционную схему лечения телят, применяемую в хозяйствах. Так, применение новой схемы лечения способствовало нормализации клинических показателей у телят. Отмечалось исчезновение характерных симптомов болезни: улучшилось общее состояние, исчез или уменьшился кашель, нормализовалась температура тела, прекратились выделения из носа.

В контрольной группе в РСКУП «Волковысское», где для лечения телят применялись этиотропные и симптоматические средства, повторно заболело 13 телят, что составило 43,3 % от общего количества животных, задействованных в опыте. Продолжительность лечения в среднем составила 8,3 дня. В опытной группе сроки лечения сокращены в 1,9 раза по сравнению с контрольной группой. Падежа и

вынужденного убоя не наблюдалось. Среднесуточный прирост живой массы в опытной группе составил 0,673 г на голову, что на 0,208 г выше, чем в контрольной. Лечебная эффективность препарата с иммуностимулирующим эффектом на основе наночастиц цинка «Иммунонаноцинк» составила в РСКУП «Волковысское» 90 %, что на 23,3 % выше по сравнению с контрольной группой, где применялась традиционная схема лечения.

В СХФ «Ханчицы» ОАО ГТФ «Неман» лечебная эффективность составила 96 %, что на 24 % выше, чем в контрольной группе. Повторно заболело в опытной группе 3 теленка, что равно 12 % от общего числа животных, в контрольной группе – 8, что составило 32 %. Продолжительность лечения при применении стандартной схемы лечения составила 8,1 дня, что в 1,9 раза больше, чем в опытной группе, где использовали разработанный препарат. Падежа и вынужденного убоя в группах не наблюдалось. Среднесуточный прирост живой массы в опытной группе

составил 0,796 г на голову, что на 0,303 г выше, чем в контрольной.

В ОАО «Будславское» в контрольной группе, где для лечения телят применялись этиотропные и симптоматические средства, повторно заболело 11 телят, что составило 36,6 % от общего количества животных, задействованных в опыте. Продолжительность лечения в среднем составила 8,5 дня. В опытной группе сроки лечения сокращены в 1,8 раза по сравнению с контрольной группой. Падежа и вынужденного убоя не было. Среднесуточный прирост живой массы в опытной группе составил 0,857 г на голову, что на 0,454 г выше, чем в контрольной. Лечебная эффективность препарата с иммуностимулирующим эффектом на основе наночастиц цинка «Иммунонаноцинк» составила в ОАО «Будславское» 93,3 %, что на 26,7 % выше по сравнению с контролем.

Результаты эффективности применения препарата с лечебной целью представлены в таблице 5.

Таблица 5. – Результаты изучения лечебной эффективности препарата «Иммунонаноцинк»

Наименование показателей	Группа животных					
	РСКУП «Волковысское»		СХФ «Ханчицы» ОАО ГТФ «Неман»		ОАО «Будславское»	
	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ
Количество животных в группе, гол.	30	30	25	25	30	30
Выздоровело, гол.	27	22	24	18	28	20
Продолжительность лечения, дн.	4,4	8,3	4,2	8,1	4,8	8,5
Повторно заболело, гол. / %	4/13,3	13/43,3	3/12	8/32	4/13,3	11/36,6
Пало и вынуждено убито, гол. / %	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Среднесуточный прирост живой массы, кг	0,673	0,465	0,796	0,493	0,857	0,403
Лечебная эффективность, %	90	73,3	96	72	93,3	66,6

Таким образом, разработанный препарат с иммуностимулирующим эффектом на основе наночастиц цинка «Иммунонаноцинк» обладает высокой лечебной эффективностью (в разных хозяйствах от 90 % до 96 %), а также позволяет снизить

повторную заболеваемость телят и сократить продолжительность болезни. Профилактическая эффективность препарата «Иммунонаноцинк» в условиях производства представлена в таблице 6.

Таблица 6. – Результаты изучения профилактической эффективности препарата «Иммунонаноцинк»

Наименование показателей	Группа животных					
	РСКУП «Волковысское»		СХФ «Ханчицы» ОАО ГТФ «Неман»		ОАО «Будславское»	
	ОГ	КГ	ОГ	КГ	ОГ	КГ
Количество животных в группе, гол.	25	25	20	20	25	25
Заболело, гол. / %	4/16	11/44	2/10	10/40	2/8	7/28
Пало и вынуждено убито, гол. / %	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Среднесуточный прирост живой массы, кг	0,658	0,425	0,676	0,433	0,707	0,418
Профилактическая эффективность, %	84	56	90	60	92	72

В РСКУП «Волковысское» за время испытаний в опытной группе заболело 4 теленка, что в 2,75 раза меньше, чем в контрольной. Падежа животных ни в опытной, ни в контрольной группах не наблюдалось. Разработанный препарат оказывал положительное влияние на рост и развитие телят. Так, у животных опытной группы, которым вводили разработанный препарат, показатель среднесуточного прироста живой массы был выше на 35,4 %, чем в контрольной, где применялись профилактические обработки по схеме, принятой в хозяйстве. Профилактическая эффективность препарата «Иммунонаноцинк» составила в РСКУП «Волковысское» 84 %, что на 28 % выше, чем в контрольной группе.

Результаты, полученные в СХФ «Ханчицы» ОАО ГТФ «Неман», свидетельствуют о 90%-ной профилактической эффективности препарата «Иммунонаноцинк», что на 30 % выше, чем в контрольной группе. Число заболевших телят в опытной группе составило 10 % от общего

количества животных, в контрольной группе этот показатель равен 40 %. Среднесуточный прирост живой массы в контрольной группе составил 0,433 г, в опытной – 0,676 г, что на 35,9 % выше. Падежа либо вынужденного убоя зафиксировано не было.

В ОАО «Будславское» за время наблюдения за животными в опытной группе заболело 2 теленка, в контрольной – 7, что составило соответственно 8 % и 28 % от общего числа животных. Среднесуточный прирост живой массы в опытной группе на 40,9 % выше, чем в контрольной. Падежа и вынужденного убоя животных в опытной и контрольной группах за период испытаний разработанного препарата не наблюдалось. Профилактическая эффективность препарата «Иммунонаноцинк» в ОАО «Будславское» составила 92 %, что на 20 % выше, чем в контрольной группе.

Таким образом, использование разработанного препарата с иммуностимули-

рующим эффектом на основе наночастиц цинка «Иммунонаноцинк» позволяет снизить заболеваемость телят, способствует увеличению прироста живой массы. Препарат обладает высокой профилактической эффективностью в сравнении с другими средствами, применяемыми в хозяйствах.

Расчеты по экономической эффективности производили на основании данных, полученных в ходе проведенных экспериментов в ОАО «Будславское» Мядельского района Минской области. Экономическая эффективность от проведения лечебных мероприятий с применением лечебно-профилактического препарата на основе наночастиц цинка «Иммунонаноцинк» составила 5,4 рубля на 1 рубль затрат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показывают, что у больных респираторными инфекциями телят сероконверсия к вирусу парагриппа-3 установлена в 87,7 % случаев, к вирусу инфекционного ринотрахеита – в 61,5 %, к вирусу диареи – в 49,2 % случаев, что свидетельствует о ведущей роли вышеуказанных вирусов в этиологии болезней органов дыхания молодняка крупного рогатого скота.

У телят с клиническим проявлением вирусных респираторных инфекций и пневмоэнтеритов отмечается снижение показателей специфического и неспецифического иммунитета: Т-лимфоцитов – на 34,5 %, В-лимфоцитов – на 25,4 %, фагоцитарной активности – на 43,81 %, фагоцитарного числа – в 2,11 раза, лизоцимной активности – в 3,85 раза, бактерицидной активности – на 43,7 % по сравнению со здоровыми животными.

Профилактическая эффективность применения разработанного препарата «Иммунонаноцинк» при вирусных респираторных инфекциях и пневмоэнтеритах телят составляет 84–92 %, а лечебная 90–96 %. Применение препарата «Иммунонаноцинк» способствует стабилизации гематологических и биохимических показателей у телят до уровня физиологической нормы. Экономическая эффективность от применения препарата составляет 5,4 рубля на рубль затрат.

Таким образом, внедрение данного препарата в систему лечебно-профилактических мероприятий при вирусных респираторных инфекциях и пневмоэнтеритах телят экономически оправдано и позволяет значительно повысить продуктивность и сохранность молодняка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хлебникова, А. Н. Цинк, его биологическая роль и применение в дерматологии / А. Н. Хлебникова, Д. Д. Петрунин // *Вестник дерматологии и венерологии*. – 2013. – № 6. – С. 104.
2. Попович, Ю. Г. Физиологическая роль цинка / Ю. Г. Попович // *Педиатрия и детская хирургия*. – 2011. – № 1. – С. 37.
3. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / И. П. Кондрахин [и др.]; под ред. В. Н. Сайтаниди. – М. : КолосС, 2004. – 520 с.
4. Бухарин, О. В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине / О. В. Бухарин, Н. В. Васильев. – Томск, 1974. – 34 с.
5. Смирнова, О. В. Определение бактерицидной активности сыворотки методом нефелометрии / О. В. Смирнова, Т. А. Кузьмина // *Журнал микробиологии*. – 1966. – № 4. – С. 8–11.
6. Безбородкин, Н. С. Определение экономической эффективности мероприятий в ветеринарной медицине / Н. С. Безбородкин, В. А. Машеро. – Витебск : ВГАВМ, 2009. – 40 с.



**Светлой памяти
ОБЪЕДКОВА
Георгия Антоновича
(К 90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ)**

19 февраля 2020 г. исполнилось бы 90 лет известному учёному и организатору науки, доктору ветеринарных наук, профессору Обьедкову Георгию Антоновичу.

Георгий Антонович Обьедков родился в селе Октябрьское Октябрьского района Оренбургской области. После окончания в 1948 г. Оренбургской средней школы № 30 Обьедков Г.А. поступил на ветеринарный факультет Оренбургского сельскохозяйственного института, который закончил в 1953 г. С 1953 г. учился в аспирантуре при кафедре клинической диагностики Московской ветеринарной академии им. К.И. Скрябина, защитил

кандидатскую диссертацию и в 1957 г. был направлен на работу в Белорусский научно-исследовательский ветеринарный институт (БелНИВИ).

В БелНИВИ Обьедков Г.А. работал с 1957 по 1961 гг. в должности младшего научного сотрудника, с 1962 по 1966 гг. – старшего научного сотрудника, с 1966 по 1995 гг. – заведующего отделом по изучению бруцеллеза и туберкулеза животных. Одновременно с 1968 по 1984 гг. Георгий Антонович 15 лет был заместителем директора по научной работе. С 1995 по 2005 гг. – заведующий научно-производственной лабораторией технологии ветеринарных препаратов. С 2006 по 2013 гг. Обьедков Г.А. трудился в должности главного научного сотрудника отдела эпизоотологического и иммунологического мониторинга (руководитель группы), с 2014 по 2018 гг. – в должности главного научного сотрудника группы научно-технической информации, сертификации и патентования.

Решением ВАК при Совете Министров СССР от 15 мая 1965 г. Георгий Антонович был утвержден в ученом звании старшего научного сотрудника по специальности «Ветеринарная микробиология», а решением ВАК при Совете Министров СССР от 19 января 1990 г. ему была присуждена ученая степень доктора ветеринарных наук.

Решением Государственного высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 9 июня 1999 г.

Обьедкову Г.А. присвоено учено звание профессора по специальности «Ветеринарная медицина».

За плечами Георгия Антоновича большой жизненный опыт, связанный с исключительно интересными периодами в жизни народа и страны – послевоенное возрождение, подъем народного хозяйства, развитие животноводства и ветеринарии.





Под руководством Г.А. Обьедкова разработаны новые методы и средства диагностики и профилактики бруцеллеза и туберкулеза животных, внедрение которых позволило ликвидировать эпизоотию бруцеллеза крупного рогатого

скота, свиней, овец на территории Республики Беларусь к 1983 г., а эпизоотию туберкулеза крупного рогатого скота – к 1995 г.

Георгий Антонович занимал активную жизненную позицию, он автор более 200 научных работ, в том числе 25 – учебно-методического, 145 – научно-исследовательского характера, 4 монографий. В монографии «Имя ветеринария» автор воссоздал давно забытое направление поиска значения термина «ветеринария» и научно обосновал новую версию образования этого названия. Обьедков Г.А. – автор 2 изобретений и 10 технико-нормативных правовых актов (ТНПА), он подготовил 5 кандидатов наук.

Георгий Антонович отличался необычайным трудолюбием, требовательностью к себе и своим подчинённым, стремлением к самосовершенствованию. Это был грамотный учёный и умный человек, обладающий большим жизненным опытом и опытом проведения научных исследований, что позволило ему профессионально и грамотно решать непростые проблемы, стоящие перед ветеринарной медициной.

Государство высоко оценило заслуги Обьедкова Г.А. Он награждён медалью «За трудовую доблесть» (1966 г.), юбилейной медалью «За доблестный труд в ознаменование 100-летия со дня рождения В.И. Ленина» (1970 г.), орденом «Знак Почета» (1971 г.), Почетной грамотой Верховного Совета Белорусской ССР (1978 г.), серебряной медалью ВДНХ СССР, медалью «Ветеран труда».

В коллективе учёных РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» Георгий Антонович пользовался заслуженным авторитетом и уважением, до последних дней оставаясь в строю.

Жизнь Георгия Антоновича Обьедкова – пример трудового подвига гражданина Республики Беларусь. Светлая память об этом замечательном человеке высоких моральных качеств, крупном талантливом учёном навсегда сохранится в наших сердцах.

