

*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, профессор

**Новикова О.Н.** – кандидат ветеринарных наук, доцент

**Ястребов А.С.** – доктор ветеринарных наук, доцент

#### **НАД НОМЕРОМ РАБОТАЛИ:**

**Ларькова А.Е.**

**Лукьянова И.А.**

**Пуцько 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****CONTENTS**

<b>Федотов Д.Н., Кучинский М.П., Юрченко И.С.</b> МОРФОЛОГИЯ АДАПТАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ВЫДРЫ РЕЧНОЙ В УСЛОВИЯХ БЕЛОРУССКОГО СЕКТОРА ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ 3	<b>Fiadotau D.N., Kuchinsky M.P., Yurchenko I.S.</b> MORPHOLOGY OF ADAPTIVE CHANGES IN THE THYROID GLAND OF THE RIVER OTTER UNDER CONDITIONS OF THE BELARUSIAN SECTOR OF THE EXCLUSION ZONE
<b>Полоз С.В., Дегтярик С.М.</b> ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ У ПОЙКИЛОТЕРМНЫХ ЖИВОТНЫХ 7	<b>Polaz S.V., Degtyarik S.M.</b> ABIOTIC FACTORS INFLUENCES THE FORMATION OF RESISTANCE POIKILOTHERMIC ANIMALS
<b>Лысенко А.П., Кучвальский М.В., Якобсон Е.И., Красникова Е.Л., Пригыченко А.Н.</b> ОБНАРУЖЕНИЕ МАРКЕРОВ СКРЫТОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В УЛЬТРАПАСТЕРИЗОВАННОМ МОЛОКЕ, ПРОИЗВЕДЕННОМ В РАЗНЫХ СТРАНАХ 13	<b>Lysenko A.P., Kuchvalskiy M.V., Yakobson E.I., Krasnikova E.L., Pritychenko A.N.</b> DETECTION OF MARKERS OF LATENT TUBERCULOSIS INFECTION IN ULTRAPASTEURIZED MILK PRODUCED IN DIFFERENT COUNTRIES
<b>Кучинский М.П., Сонов А.А., Савчук Т.М., Кучинская Г.М.</b> ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО ПРЕПАРАТА «КАЛЬЦЕМАГФОСВИТ» ПРИ ПАТОЛОГИИ ПОСЛЕРОДОВОГО ПЕРИОДА У КОРОВ 26	<b>Kuchinsky M.P., Sonov A.A., Savchuk T.M., Kuchinskaya G.M.</b> ASSESSMENT OF THE THERAPEUTIC EFFICIENCY OF THE NEW PREPARATION «KALTSEMAGFOSVIT» IN PATHOLOGY OF THE POSTNATAL PERIOD IN COWS
<b>Надаринская М.А., Голушко О.Г., Козинец А.И., Кучинский М.П.</b> ВТОРИЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПРОИЗВОДСТВА МАСЛА В КОРМЛЕНИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА 32	<b>Nadarinskaya M.A., Golushko O.G., Kozinets A.I., Kuchinsky M.P.</b> SECONDARY PRODUCTS OF PROCESSING OIL PRODUCTION IN CATTLE FEEDING
<b>Дубина И.Н.</b> ИЗУЧЕНИЕ МОРФОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ (ЦИТОМОРФОЛОГИИ) ЯИЦ ГЕЛЬМИНТОВ ПЛОТОЯДНЫХ С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЗИНВАЗИИ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ 41	<b>Dubina I.N.</b> STUDY OF THE MORPHOSTOCHEMICAL STRUCTURE (CYTOMORPHOLOGY) OF CARNIVORE HELMINTH EGGS WITH THE PURPOSE OF INCREASING THE EFFICIENCY OF THE EXTERNAL ENVIRONMENT
<b>Орипов А.О., Юлдашов Н.Э., Джаббаров Ш.А., Тугузов Ю.М., Улашов И.А., Кучинский М.П.</b> НОВЫЕ МОЛЛЮСКОЦИДЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ФАСЦИОЛЕЗА, ШИСТОСОМОЗА (ОРИЕНТОБИЛГАРЦИОЗА) И ПАРАМФИСТОМАТИДОЗОВ 53	<b>Oripov A.O., Yuldashov N.E., Dzhabbarov S.A., Tuguzov Yu.M., Ulashov I.A., Kuchinsky M.P.</b> NEW MOLLUSCOCIDES FOR THE PREVENTION OF FASCILOZ, SHISTOSOMOSIS (ORIENTOBILGARCIOSIS) AND PARAMPHISTOMATIDOSES
<b>Герасимчик В.А., Кошнеров А.Г., Дегтярик С.М., Полоз С.В., Слободницкая Г.В.</b> ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА «СУЛЬФАПРИМ 48 БТ» ПРИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЯХ КАРПОВЫХ РЫБ 59	<b>Herasimchyk V.A., Koshnerau A.G., Degtyarik S.M., Polaz S.V., Slabodnitskaya G.V.</b> EFFICACY OF THE DRUG «SULFAPRIMUM 48 BT» AGAINST THE BACTERIAL INFECTIONS OF CARP
<b>К ЮБИЛЕЮ КРАСОЧКО ИРИНЫ АЛЕКСАНДРОВНЫ</b> 65	<b>TO THE ANNIVERSARY OF IRINA ALEXANDROVNA KRASOCHKO</b>
<b>Липницкий С.С.</b> К 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ИВАНА СЕМЕНОВИЧА ЖАРИКОВА (1921–2003) 66	<b>Lipnitsky S.S.</b> ON THE 100TH ANNIVERSARY OF THE BIRTH OF IVAN SEMENOVICH ZHARIKOV (1921–2003)

Компьютерная верстка: Лукьянова И.А.

Подписано в печать 06.12.2021 г.

Формат 60x84<sup>1/8</sup> Бумага офсетная. Гарнитура Таймс.

Уч.-изд. л. , усл. печ. л. 9,0. Тираж 100 экз. Заказ №

220063, г. Минск, ул. Брикета, 28. E-mail: [bievmtut.by](mailto:bievmtut.by); [office@bievm.by](mailto:office@bievm.by); [knirtut.by](mailto:knirtut.by); [knir@bievm.by](mailto:knir@bievm.by)

Республиканское унитарное предприятие «Информационно-вычислительный центр

Министерства финансов Республики Беларусь».

Свидетельства о государственной регистрации издателя, изготовителя,

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

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

Федотов Д.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент<sup>1</sup>  
Кучинский М.П., доктор ветеринарных наук, профессор<sup>2</sup>  
Юрченко И.С., заведующий отделом экологии фауны<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслеского», г. Минск

<sup>3</sup>Государственное природоохранное научно-исследовательское учреждение «Полесский государственный радиационно-экологический заповедник», г. Хойники

## МОРФОЛОГИЯ АДАПТАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ВЫДРЫ РЕЧНОЙ В УСЛОВИЯХ БЕЛОРУССКОГО СЕКТОРА ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ

### Резюме

Впервые определены анатомические, гистологические и морфометрические критерии по радиационно-индуцированному поражению щитовидной железы выдры речной.

**Ключевые слова:** щитовидная железа, морфология, выдра, радиация.

### Summary

The main attention is paid the anatomical, histological and morphometric criteria of radiation damage a thyroid gland of the otter.

**Keywords:** thyroid gland, morphology, otter, radiation.

Поступила в редакцию 06.08.2021 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Радиационно-экологический мониторинг государственного природоохранного научно-исследовательского учреждения «Полесский государственный радиационно-экологический заповедник» включает наблюдение и контроль состояния загрязненной радионуклидами ближней зоны Чернобыльской АЭС, получение базовой информации для оценки и прогноза общей радиозологической обстановки. Использование данных радиоэкологического мониторинга позволяет выявлять многие закономерности изменения радиационной обстановки территории, существования и развития наземных и водных экосистем в условиях радиоактивного загрязнения территории и снятия антропогенной нагрузки [1, 6, 8].

Естественные экосистемы под влиянием человеческого фактора претерпевают значительную трансформацию, выражающуюся в снижении биологического разно-

образия, патологических и адаптивных физиолого-биохимических реакций выживших видов и систем на различных уровнях организации. Техногенное загрязнение среды часто оказывает большее влияние на гетерогенность биосферы, чем естественный биогеохимический круговорот [6]. Долгосрочное загрязнение территории Республики Беларусь радионуклидами Cs-137, Sr-90, Pu-239, 240, 241 произошло в результате аварии на Чернобыльской АЭС. В зависимости от радиационной обстановки, анализа данных об уровнях загрязнения почв, продукции территория РБ делится на три зоны. Зона «А» – территория радиоактивного загрязнения, где произошло долговременное загрязнение окружающей среды радиоактивными веществами с плотностью загрязнения почвы радионуклидами цезия-137 более 37 кБк/м<sup>2</sup> (1 Ки/км<sup>2</sup>), стронция-90 – более 5,55 кБк/м<sup>2</sup> (0,15 Ки/км<sup>2</sup>). Зона «Б» – территория веро-

ятного радиационного воздействия выбросов АЭС сопредельных государств. Зона «В» – остальная территория республики («чистая») – территория, где плотность загрязнения почвы по цезию-137 менее 37 кБк/м<sup>2</sup>, стронцию-90 – менее 5,55 кБк/м<sup>2</sup> [4].

Эндокринные железы, особенно щитовидная железа, занимают одно из центральных мест в регуляции и реализации таких жизненно важных процессов, как рост, развитие (включая все этапы онтогенеза), репродуктивное поведение и адаптация организма к изменяющимся условиям существования [2, 3, 7].

Речная выдра (*Lutra lutra* Linnaeus, 1758) – вид хищных млекопитающих семейства куньих, ведущих полуводный образ жизни [5]. Выдра является типичным представителем хищников Полесского государственного радиационно-экологического заповедника. В современной биологии и медицине имеется значительное количество работ, которые доказывают, что при воздействии ионизирующего излучения в клетках и тканях развиваются морфологические изменения разной степени выраженности. Предполагают, что механизмы биологических эффектов малых и больших доз облучения могут принципиально отличаться. Однако работ о влиянии радиационной среды обитания на щитовидную железу речной выдры в доступной литературе не имеется.

**Цель исследований** – определить морфологическую характеристику щитовидной железы выдры речной в условиях радиационной зоны отчуждения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На территории Полесского государственного радиационно-экологического заповедника (зона «А») при помощи капканов отлавливали выдр (n=5).

Нами была определена удельная активность <sup>137</sup>Cs и <sup>90</sup>Sr в печени и легких выдры речной, обитающей в условиях белорусского сектора зоны отчуждения. Удельная активность <sup>137</sup>Cs в печени выдр находилась в пределах от 110±34 до 546±120 Бк/кг, а в легких – от 70±19 до 415±97 Бк/кг. В среднем удельная актив-

ность <sup>137</sup>Cs в печени выдр составила 305±127,94 Бк/кг, в легких – 249±99,804 Бк/кг. Концентрация <sup>137</sup>Cs была максимальной у одного самца и составила 546±120 Бк/кг. Удельную активность <sup>90</sup>Sr удалось установить корректно только у одного животного в легких, и она составила 154±49 Бк/кг.

Изучали абсолютную массу долей щитовидной железы и их длину. Линейные размеры исследуемых органов измеряли с помощью линейки с ценой деления 1 мм и штангенциркуля, абсолютную массу – на электронных весах Scout Pro. Топография описывалась с учетом голотопии (местоположение в теле), скелетотопии (расположение органов в теле животного относительно элементов скелета) и синтопии (топографическое отношение органа к соседним анатомическим образованиям). Также отмечали внешние морфологические признаки (цвет, консистенцию, поверхность, вид, форму и абрис органов).

Макрофотографирование исследуемых эндокринных желез проводили при помощи цифрового фотоаппарата Lumix производства Panasonic, модель DMC-FX12 с функцией для макрофотографического или анатомического фото.

Щитовидные железы фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Гистологические срезы изготавливали на санном микротоме и окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизону.

Абсолютные измерения структурных компонентов щитовидной железы осуществляли при помощи светового микроскопа «Olympus» модели VX-41 с цифровой фотокамерой системы «Altra<sub>20</sub>» и спектрометра HR 800 с использованием программы «Cell^A», проводили фотографирование цветных изображений (разрешение 1400 на 900 пикселей). Дополнительно на цифровом микроскопе Celestron с LCD-экраном PentaView, модель #44348, проводили фотографирование с последующим анализом цветных изображений (разрешение 1920 на 1080 пикселей).

Все цифровые данные, полученные при проведении исследований, были обра-

ботаны статистически с помощью компьютерной программы Microsoft Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

По морфометрическим параметрам установлено, что левая доля превалирует над правой. Абсолютная масса правой доли равна  $0,66 \pm 0,15$  г, левой –  $0,91 \pm 0,12$  г. Длина правой доли щитовидной железы составляет  $1,74 \pm 0,04$  см, левой –  $2,01 \pm 0,02$  г.

Щитовидную железу снаружи покрывает тонкая нежная капсула, от которой отходят соединительнотканые перегородки, достигающие до центра железы и соединяющиеся между собой, в результате чего орган имеет хорошо выраженный дольчатый тип строения. Соединительнотканые перегородки и межфолликулярные прослойки совместно с капсулой формируют строение органа. Толщина капсулы железы составляет  $16,13 \pm 1,77$  мкм. К адаптационным изменениям гистологических структур щитовидной железы у выдры можно отнести отсутствие интерфолликулярных островков эпителиоцитов, появление молодых фолликулов и «подушечек Сандерсона», которые служат резервом развития новых аденомеров.

Тироциты в щитовидных железах выдры преимущественно кубической формы, формируют стенку для каждого фолликула. Ядра тироцитов вытянутой и шаровидной формы, расположены параллельно стенкам фолликулов. Цитоплазма железистых клеток светлая, ядра базофильные. Высота тироцитов составляет  $6,75 \pm 1,59$  мкм.

Фолликулы в щитовидной железе речной выдры округлой и неправильной формы, плотно прилегают друг к другу. Полость фолликулов заполнена коллоидом, на их периферии располагаются многочисленные резорбционные вакуоли, что свидетельствует о начинающейся активизации секреторных процессов в железах или о переходе из состояния относительного физиологического покоя к началу функциональной деятельности железы (рисунок 2). Данная активация коллоидной системы фолликулов щитовидной железы объясняется радиационно-индуцированным воздействием.



Рисунок 1. – Топография щитовидной железы выдры речной

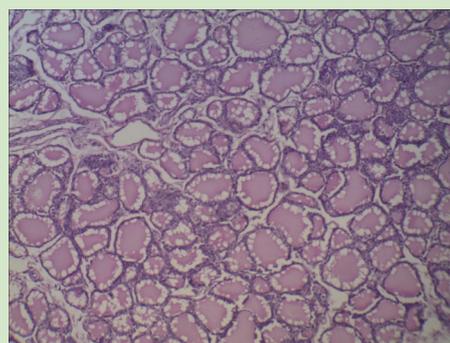


Рисунок 2. – Активная резорбция коллоида в щитовидной железе выдры речной, обитающей в радиационной зоне

Пустые фолликулы встречаются редко, при этом щитовидная железа кровенаполнена, сосуды микроциркуляторного русла широкие, что говорит о поступлении гормонов в кровоток. Наряду с выделением коллоида, имеет место и секреция его внутри фолликула.

В щитовидной железе речной выдры преобладают мелкие фолликулы ( $91,50 \pm 0,36$  %), средние встречаются редко ( $8,50 \pm 0,58$  %) и располагаются на периферии органа. Крупные аденомеры в железах выдр отсутствуют. Диаметр мелких фолликулов составляет  $41,22 \pm 4,01$  мкм. Данные адаптационные изменения указывают, что щитовидные железы речной выдры в радиационной зоне обитания относятся к железам мелкофолликулярного типа строения.

Для щитовидных желез выдр характерна десквамация тироидного эпителия. В большинстве случаев десквамация фолликулярного эпителия в щитовидных

железах наблюдается при цилиндрической метаплазии кубического эпителия, разжижении коллоида, концентрации резорбционных вакуолей, полнокровии кровеносных капилляров. Коллапс фолликулов, сопровождающий усиленную резорбцию коллоида, и выраженное полнокровие перифолликулярных капилляров служат дополнительными факторами, способствующими слущиванию эпителия.

### ВЫВОДЫ

1. Впервые установлены морфологические характеристики и определены адаптационные гистологические изменения щитовидной железы выдры речной в условиях белорусского сектора зоны отчуждения.

2. Щитовидная железа – парный орган, правая доля локализуется на уровне 1–7-го, левая – 1–9-го кольца трахеи. Доли вытянутой лентовидной формы, бордового цвета. По морфометрическим параметрам левая доля превалирует над правой. К адаптационным изменениям гистологических структур щитовидной железы у выдры можно отнести отсутствие интерфолликулярных островков эпителиоцитов, появление молодых фолликулов и «подуше-

чек Сандерсона», которые служат резервом развития новых аденомеров. Полость фолликулов заполнена коллоидом, на их периферии располагаются многочисленные резорбционные вакуоли и преобладают мелкие фолликулы ( $91,50 \pm 0,36$  %), то есть железы мелкофолликулярного типа строения. В большинстве случаев десквамация фолликулярного эпителия в щитовидных железах наблюдается при цилиндрической метаплазии кубического эпителия, разжижении коллоида, концентрации резорбционных вакуолей, полнокровии кровеносных капилляров.

3. Для объективизации установления причин изменения популяции или морфофизиологических особенностей выдры, экологически обусловленных патологией органов, целесообразно проводить комплексное морфологическое исследование щитовидной железы. Установленные нами адаптационные изменения в щитовидных железах выдры речной следует рассматривать при организации системы мониторинга диких животных на загрязненных территориях для процесса принятия экологических решений и прогнозирования изменений радиоэкологической ситуации на продолжительное время.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарь, Ю. И. Вертикальное распределение  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{90}\text{Sr}$ ,  $^{241}\text{Am}$  в почве при прохождении пожаров на территории Белорусского сектора зоны отчуждения / Ю. И. Бондарь, В. И. Садчиков, В. Н. Калинин // Сахаровские чтения 2015 года : экологические проблемы XXI века : материалы 15-й Междунар. науч. конф., 21–22 мая 2015 г., г. Минск / МГЭУ им. А. Д. Сахарова. – Минск, 2015. – С. 200.
2. Жуков, А. И. Патологическая анатомия органов животных : практические рекомендации для ветеринарных специалистов Республики Беларусь / А. И. Жуков, М. П. Кучинский, Д. Н. Федотов ; Национальная академия наук Беларуси, Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеселеского, Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Минск, 2017. – 116 с.
3. Косинец, В. А. Метаболическая коррекция структурных изменений в надпочечниках при экспериментальном распространенном гнойном перитоните / В. А. Косинец, Д. Н. Федотов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – Т. 75, № 6. – С. 44–47.
4. Об утверждении Положения о контроле радиоактивного загрязнения : постановление Министерства по чрезвычайным ситуациям Республики Беларусь от 11 февраля 2016 г., № 10 [Электронный ресурс]. – 2018. – Режим доступа: [http://www.pravo.by/upload/docs/op/W21630923\\_1464037200.pdf](http://www.pravo.by/upload/docs/op/W21630923_1464037200.pdf) [http://kodeksy-by.com/norm\\_akt/source-type-10-11.02.2016](http://kodeksy-by.com/norm_akt/source-type-10-11.02.2016). – Дата доступа: 19.02.2018.
5. Родиков, В. П. Распространение, численность и биология выдры в Белорусском Полесье : автореф. дис. ... канд. биол. наук / В. П. Родиков ; Институт зоологии Академии наук БССР, Гомельский государственный университет. – Минск, 1982. – 18 с.
6. Федотов, Д. Н. Эндокринная система животных как тест-система в радиоэкологическом мониторинге / Д. Н. Федотов, И. М. Луппова // Региональные проблемы экологии: пути решения :

тезисы докладов III Междунар. экологического симпозиума (14–15 сентября 2006 г.) в г. Полоцке : в 2 т. / Полоцкий государственный университет. – Полоцк, 2006. – Т. 2. – С. 196–197.

7. Федотов, Д. Н. Морфология и патология щитовидной железы крупного рогатого скота в условиях Республики Беларусь / Д. Н. Федотов, М. П. Кучинский, Г. М. Кучинская // *Veterinaria Med-itsinasi*. – Ташкент, 2019. – № 9 (142). – С. 7–11.

8. Федотов, Д. Н. Формообразовательные процессы и морфологические изменения периферических эндокринных желез при адаптивно-приспособительных реакциях енотовидной собаки в зоне снятия антропогенной нагрузки и при действии радиоактивного загрязнения / Д. Н. Федотов, И. С. Юрченко // *Ветеринарный журнал Беларуси*. – 2019. – № 1 (10). – С. 68–71.

УДК 574.24:639.2/3

<https://doi.org/10.47612/2224-1647-2021-2-7-12>

Полоз С.В., кандидат ветеринарных наук

Дегтярик С.М., кандидат биологических наук, доцент

РУП «Институт рыбного хозяйства», г. Минск

## ВЛИЯНИЕ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ У ПОЙКИЛОТЕРМНЫХ ЖИВОТНЫХ

### Резюме

Установлены зависимости и закономерности влияния абиотических факторов на формирование устойчивости пойкилотермных животных на модельном виде *Cyprinus carpio*. Резкое снижение температуры водной среды приводит к увеличению уровня кортизола в сыворотке крови рыб. Снижение количества растворенного кислорода в водной среде приводит к повышению уровня кортизола. На фоне увеличения времени нахождения в безводной среде у *Cyprinus carpio* в сыворотке крови уровень белка снижается, а уровень кортизола повышается.

**Ключевые слова:** карп, абиотические факторы, температура, кислород, кортизол сыворотки крови, общий белок.

### Summary

Dependences and regularities of the influence of abiotic factors on the formation of resistance of poikilothermic animals on the model species *Cyprinus carpio* have been resisted. A sharp decrease in the temperature of the aquatic environment leads to an increase in the level of cortisol in the blood serum of fish. A decrease in the amount of dissolved oxygen in the aquatic environment leads to an increase in cortisol levels. With an increase in the time spent in an anhydrous medium in the serum of *Cyprinus carpio*, the level of protein decreases, and the level of cortisol increases.

**Keywords:** carp, abiotic factors, temperature, oxygen, serum cortisol, total protein.

Поступила в редакцию 13.09.2021 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Устойчивость гидробионтов, обитающих в самых разнообразных естественных и искусственных условиях, представляет собой область исследований, которая касается многих научных дисциплин и представляет исключительный интерес для широкого круга исследователей и специалистов. Многие теоретические вопросы экологии и иммунобиологии гидробионтов, а также практические вопросы рациональ-

ного использования рыбных ресурсов в естественной среде и вопросы аквакультуры необходимо решать с учетом их физиологического статуса [4].

Среди абиотических факторов водной среды, влияющих на жизнедеятельность гидробионтов, особую роль играет температура [5, 6]. Именно температура определяет ход и интенсивность процессов питания, роста, развития и выживаемости водных организмов. Кроме того, распреде-

ление и поведение рыб в естественных условиях и аквакультуре зависит от нормального содержания кислорода в водной среде. Поэтому очень важно представлять, где расположены зоны эколого-физиологического оптимума [5, 6], а также сублетальные и летальные пределы, где жизненные процессы рыб или затруднены, или невозможны [1].

Стресс становится все более изучаемой темой из-за его влияния на рост, размножение, иммунную систему и, в конечном итоге, на устойчивость животного. Развиваются новые экспериментальные методы описания физиологии стресса у рыбы, содержащейся в неволе, или у дикой рыбы в естественных условиях обитания, будь то оценка благополучия в аквакультуре, адаптивных способностей в экологии рыб или исследования последствий резких изменений окружающей среды, вызванных деятельностью человека. Кортизол оказался надежным индикатором стресса и считается основным его гормоном.

Эффективное реагирование на стрессор является адаптивным, и у большинства животных развился общий процесс, включающий активацию оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники/межпочечники. У многих млекопитающих и рыб кортизол – основной кортикостероид, вырабатываемый в данной оси [3].

Кортизол является важнейшим циркулирующим глюкокортикоидом у рыб, и его действие опосредуется его цитозольным рецептором, рецептором глюкокортикоидов (GR), и регулирует экспрессию генов, участвующих в росте, метаболизме и иммунной функции. Кортизол может играть ключевую роль в перераспределении энергетического субстрата в гепатоцитах, чтобы справиться со стрессом. Недавние исследования также указывают на роль кортизола в обеспечении быстрых реакций, которые не являются геномными и включают модуляцию вторичных сигнальных каскадов [2].

**Цель работы** – установить уровень кортизола и общего белка сыворотки крови пойкилотермных животных на биологической модели *Cyprinus carpio* в зависимости от влияния абиотических факторов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на базе селекционно-племенного участка «Изобелино» и ХРУ «Вилейка» Минской области, а также в условиях лаборатории болезней рыб РУП «Институт рыбного хозяйства» РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству» в четыре этапа.

На первом этапе определяли уровень кортизола у производителей карпа в период нерестового процесса при интенсивном производстве. По принципу рандомных аналогов было сформировано 6 групп: первая группа (n=5) – самки до нереста; вторая (n=5) – самки после естественного нереста; третья (n=5) – самки после интенсивного нереста; четвертая (n=5) – самцы до нереста; пятая (n=5) – самцы после нереста (естественное воспроизводство); шестая (n=5) – самцы после нереста (интенсивное производство).

На втором этапе определяли влияние резкого снижения температуры водной среды. Методом рандомных аналогов было сформировано две группы карпа (сеголеток). В первой группе (n=6) температуру водной среды резко снижали с 15 °С до 6 °С с экспозицией 2,5 часа, в контрольной группе (n=6) – поддерживали на уровне 15 °С.

На третьем этапе изучали влияние количества кислорода в водной среде. Методом рандомных аналогов было сформировано две группы карпа (сеголеток). В первой группе (n=6) уровень кислорода в водной среде составил 5,3 мг/л (аэрация отсутствовала), в контрольной группе (n=6) – 8,43 мг/л (аэрация поддерживалась). Исследования проводили после предварительной адаптации с прочими равными условиями.

На четвертом этапе определяли зависимость уровня белка и кортизола от

времени нахождения рыбы в безводной среде. Методом случайных аналогов было сформировано две группы карпа (сеголеток). Отбор крови рыб в каждой экспозиции проводился одновременно. Первая экспозиция составила 5–10 минут (n=6), вторая – 10–15 минут (n=6), третья – 15–20 минут (n=6). Вторая группа (n=6) служила контролем.

На всех этапах исследования сыворотку крови получали общепринятыми методами (у сеголеток – из сердца) с последующим центрифугированием. Уровень общего белка определяли с помощью рефрактометра согласно инструкции по применению. Показатели кортизола устанавливали методом иммуноферментного анализа, используя диагностические наборы. Затем строили калибровочную кривую, нанося данные среднего значения коэффициента поглощения, полученного из каждого референсного стандарта. Используя среднее значение коэффициента поглощения для каждого образца, по калибровочной кривой определяли соответствующую концентрацию кортизола в нмоль/л. Статистическая обработка проводилась в программе Excel.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант Б20-019).

Выражаем благодарность кандидату ветеринарных наук, доценту Тяпше Ю.И. (РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского») за возможность проведения спектрофотометрических исследований.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При интенсивном выращивании вместе с естественной кормовой базой водоёма кормление рыб осуществляется либо комбикормами, либо отдельными его компонентами (зерно и отходы его переработки). При этом кормовой коэффициент уменьшается, а скорость роста рыбы увеличивается. Для кормления рыбы выделяют специальные кормовые места. Это позволяет контролировать поедаемость корма. Сбалансированное кормление, включающее потребление зоопланктона и комбикорма, обеспечивает быстрый прирост массы тела рыб. Введение в рацион комбикорма способствует повышению двигательной активности рыб, что требует контроля уровня кислорода в прудах.

Определение уровня кортизола у производителей карпа в период нерестового процесса при интенсивном производстве проводили при соблюдении всех условий интенсивного выращивания карпа.

Результаты исследований показали, что в 3-й группе уровень кортизола в сыворотке крови карпа составляет  $1024,0 \pm 11,7$  нмоль/л ( $P < 0,02$ ), что в 2,1 раза выше, чем в 1-й группе, в которой уровень кортизола  $483,8 \pm 65,5$  нмоль/л, и в 1,7 раз выше, чем во 2-й группе, в которой уровень кортизола –  $612,6 \pm 126,1$  нмоль/л соответственно. В 6-й группе уровень кортизола в сыворотке крови карпа составляет  $917,4 \pm 21,8$  нмоль/л ( $P < 0,05$ ), что на 44,2 % выше, чем в 4-й группе, где уровень кортизола  $512 \pm 28,5$  нмоль/л, и на 37,2 % выше, чем в 5-й, в которой уровень кортизола –  $576,3 \pm 43,7$  нмоль/л соответственно (таблица).

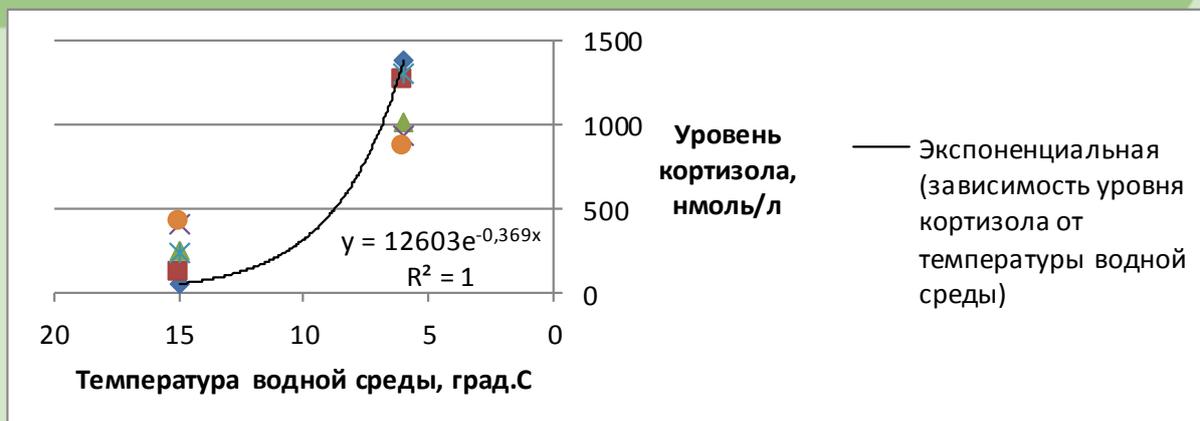
Таблица. – Уровень кортизола у производителей карпа в период нерестового процесса, нмоль/л

Группа					
1	2	3	4	5	6
586,0	722,0	932,0	496,0	568,0	805,0
416,0	338,0	1224,0	416,0	786,0	785,0
334,0	286,0	1049,0	638,0	554,0	1014,0
214,0	1489,0	969,0	592,0	626,0	1023,0
869,0	228,0	946,0	418,0	348,0	960,0
$483,8 \pm 65,5$	$612,6 \pm 126,1$	$1024,0 \pm 11,7^*$	$512,0 \pm 28,5$	$576,3 \pm 43,7$	$917,4 \pm 21,8^{**}$

Примечание – \* $P < 0,02$ ; \*\* $P < 0,05$

На втором этапе в результате экспериментальных исследований установлена зависимость уровня кортизола в сыворотке крови карпа от снижения температуры водной среды. При резком снижении температуры водной среды с 15 °С до 6 °С гибель сеголеток карпа начинается при экспозиции

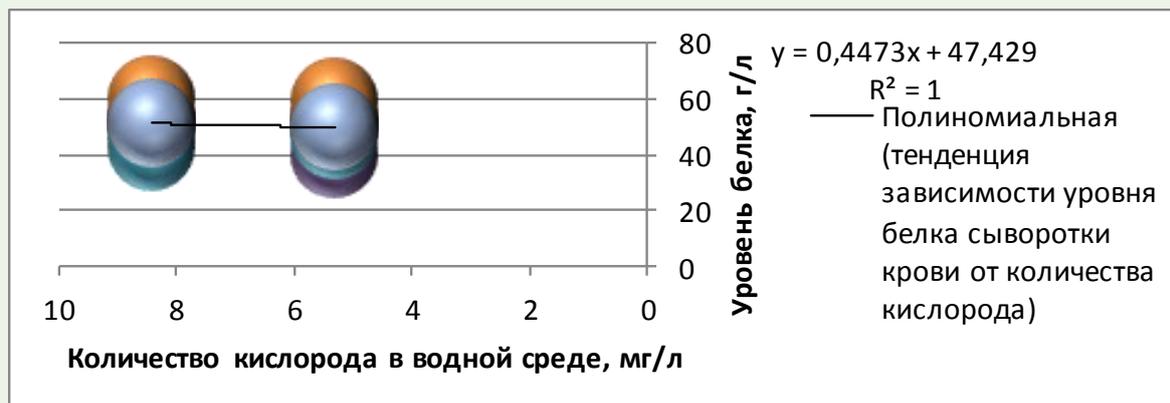
2,5 часа. Резкое снижение температуры водной среды приводит к увеличению уровня кортизола в сыворотке крови рыб опытной группы до  $1124,7 \pm 51,2$  нмоль/л, что в 4,6 раза выше, чем в контрольной группе –  $245,3 \pm 36,9$  нмоль/л (рисунок 1).



**Рисунок 1. – Зависимость уровня кортизола в сыворотке крови сеголеток карпа от температуры водной среды**

На третьем этапе при изучении влияния количества кислорода в водной среде установлено, что в первой группе, где количество кислорода было 5,3 мг/л, уровень белка в сыворотке крови составил  $49,8 \pm$

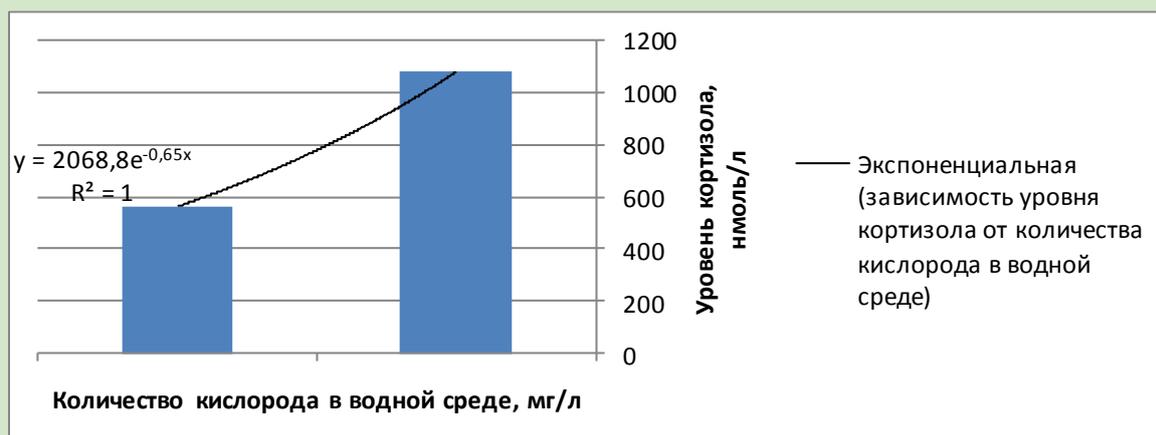
$1,24$  г/л. В контрольной группе, где количество кислорода в водной среде было 8,43 мг/л, уровень белка в сыворотке крови составил  $51,2 \pm 1,72$  г/л.



**Рисунок 2. – Зависимость уровня белка в сыворотке крови сеголеток карпа от количества кислорода в водной среде**

Также установлена зависимость уровня кортизола от концентрации растворенного кислорода в водной среде. Уровень кортизола в сыворотке крови в первой группе, где в условиях водной среды концентрация кислорода была 5,3 мг/л, соста-

вил  $1079,7 \pm 46,5$  нмоль/л, что на 47,7 % выше, чем в контрольной группе ( $563,5 \pm 40,6$ ), в которой количество кислорода в водной среде было 8,43 мг/л (рисунок 3).

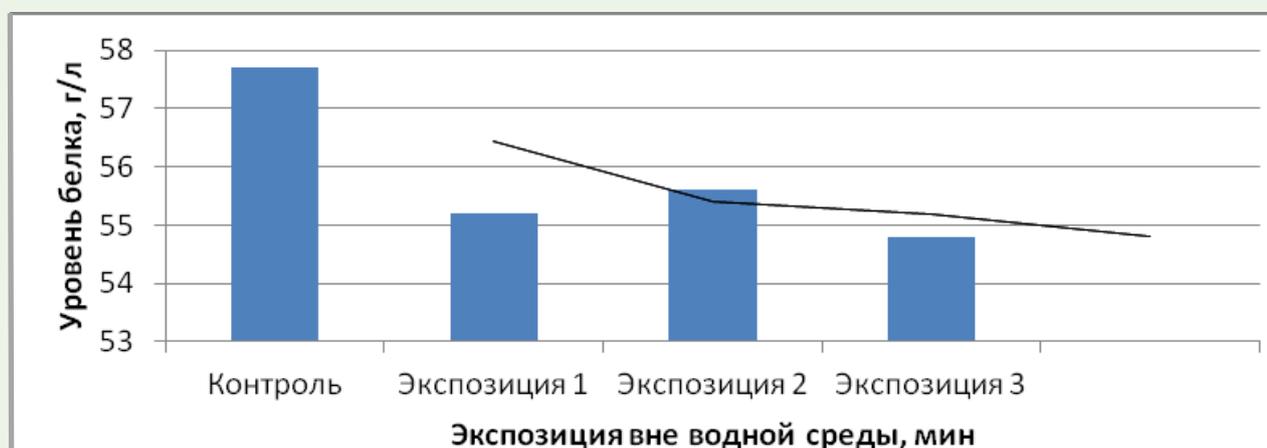


**Рисунок 3. – Зависимость уровня кортизола в сыворотке крови сеголеток карпа от количества кислорода в водной среде**

На четвертом этапе определяли уровень белка и кортизола в зависимости от времени нахождения рыбы в безводной среде.

На рисунке 4 отражена линейная фильтрация, характеризующая тенденцию снижения уровня белка сыворотки крови сеголеток карпа в зависимости от времени

нахождения в безводной среде. При этом уровень белка при экспозиции 1 составил  $55,2 \pm 1,16$  г/л, при экспозиции 2 –  $55,6 \pm 1,16$  г/л, при экспозиции 3 –  $54,8 \pm 0,95$  г/л, в контрольной группе –  $57,7 \pm 1,63$  г/л. Таким образом, чем больше время экспозиции, тем ниже уровень белка в сыворотке крови.



**Рисунок 4. – Уровень белка в сыворотке крови сеголеток карпа в безводной среде**

Также установлено увеличение уровня кортизола в сыворотке крови сеголеток карпа в зависимости от времени нахождения в безводной среде. При этом уровень кортизола при экспозиции 1 составил  $732,0 \pm 79,2$  нмоль/л, при экспозиции 3 –  $764,7 \pm 105,0$  нмоль/л (рисунок 5). Причем

наибольшее увеличение наблюдалось при экспозиции 2, когда уровень кортизола составил  $1112,0 \pm 52,5$  нмоль/л, что в 2,7 раза выше, чем в контрольной группе ( $415,7 \pm 82,0$  нмоль/л), достоверное отличие от контрольной группы  $P \leq 0,005$ .

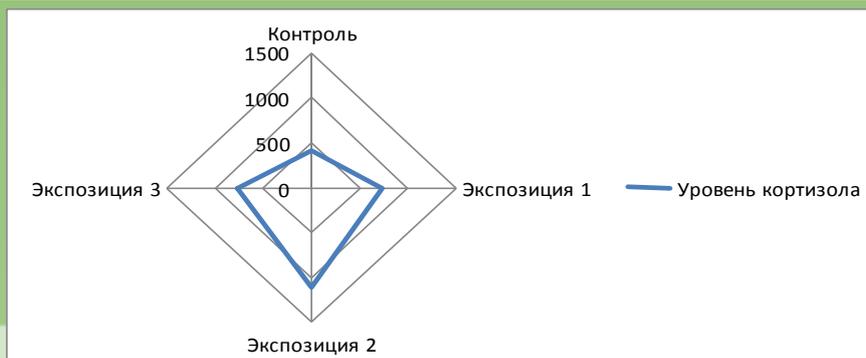


Рисунок 5. – Уровень кортизола в сыворотке крови сеголеток карпа в безводной среде

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В посленерестовый период уровень кортизола у самок и самцов повышается как при естественном воспроизводстве, так и при интенсивном выращивании по сравнению с таковым до нереста, однако при интенсивном выращивании этот показатель значительно выше. При этом у самок уровень кортизола выше, чем у самцов, особенно при интенсивном производстве.

Установлена зависимость уровня кортизола в сыворотке крови карпа от температуры водной среды. Резкое снижение температуры водной среды с 15 °С до 6 °С приводит к увеличению уровня кортизола в 4,6 раза. Экспозиция 2,5 часа вызывает летальный эффект.

Уровень кортизола в сыворотке крови в первой группе, где в условиях водной среды концентрация кислорода была

5,3 мг/л, составил 1079,7±46,5 нмоль/л, что на 47,7 % выше, чем в контрольной группе, где количество кислорода в водной среде было 8,43 мг/л. Установлена зависимость: чем ниже количество растворенного кислорода в водной среде, тем выше уровень кортизола.

Длительное нахождение рыб в безводной среде приводит к изменению показателей общего белка и кортизола в сыворотке крови. При этом установлено, что на фоне увеличения времени нахождения в безводной среде уровень белка снижается до 54,8±0,95 г/л (в контрольной группе – 57,7±1,63 г/л), а уровень кортизола повышается до 1112,0±52,5 нмоль/л, что в 2,7 раза выше, чем в контрольной группе. Установлена закономерность: чем дольше время нахождения рыб в безводной среде, тем ниже их устойчивость.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Beitinger, T. A. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature / T. A. Beitinger, W. A. Bennet, R. W. McCauley // *Env. Biol. Fishes.* – 2000. – Vol. 58, iss. 3. – P. 237–275.
2. Faught, E. Mechanisms of cortisol action in fish hepatocytes / E. Faught, M. M. Vijayan // *Comparative Biochemistry and Physiology Part B : Biochemistry and Molecular Biology.* – 2016. – Vol. 199. – P. 136–145.
3. Sadoul, B. Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes / B. Sadoul, B. Geffroy // *Fish biology.* – 2019. – Vol. 94, iss 4. – P. 540–555.
4. Голованов, В. К. Температура и здоровье рыб. Экологические, физиолого-биохимические и иммунологические аспекты / В. К. Голованов // *Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов : расширенные материалы IV Междунар. конф., Борок, 24–27 сентября 2015 г. / РАН, Федер. агентство науч. орг. России, ФГБУН «Ин-т биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН» ; [под ред. В. Р. Микрякова, Е. А. Криксунова, Д. В. Микрякова] ; отв. за вып. Д. С. Павлов [и др.]. – Ярославль : Филигрань, 2015. – С. 11–19.*
5. Голованов, В. К. Температурные критерии жизнедеятельности пресноводных рыб / В. К. Голованов. – М. : Полиграф-Плюс, 2013. – 300 с.
6. Голованов, В. К. Эколого-физиологические закономерности распределения и поведения пресноводных рыб в термоградиентных условиях / В. К. Голованов // *Вопросы ихтиологии.* – 2013. – Т. 53, № 3. – С. 286–314.

Лысенко А.П., доктор ветеринарных наук, профессор<sup>1</sup>

Кучвальский М.В., аспирант<sup>2</sup>

Якобсон Е.И., магистрант<sup>2</sup>

Красникова Е.Л., научный сотрудник<sup>1</sup>

Притыченко А.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент<sup>1</sup>

<sup>1</sup>РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслеского», г. Минск

<sup>2</sup>Белорусский государственный университет, г. Минск

## ОБНАРУЖЕНИЕ МАРКЕРОВ СКРЫТОЙ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ В УЛЬТРАПАСТЕРИЗОВАННОМ МОЛОКЕ, ПРОИЗВЕДЕННОМ В РАЗНЫХ СТРАНАХ

### Резюме

В ультрапастеризованном молоке из стран, не имеющих статуса свободных от туберкулеза крупного рогатого скота и имеющих его, обнаружен геном микобактерий туберкулеза (МБТ), и из всех проб молока выделены МБТ с дефектной клеточной стенкой (cell wall deficient – CWD), что указывает на скрытую туберкулезную инфекцию в стадах, поставляющих молоко на молокоперерабатывающие предприятия.

Установлено, что в молоке присутствовали ультрамелкие (менее 0,22 мкм) термостабильные защитные формы МБТ, способные восстанавливать жизнеспособность в виде CWD МБТ и, возможно, играющие роль в индукции онкогенеза и других патологических состояний.

Существующие критерии благополучия стад не позволяют обнаружить скрытую туберкулезную инфекцию, так как персистирующие CWD (L-) формы МБТ не вызывают развития макроскопических изменений и гиперчувствительности к туберкулину. Для выявления реальной ситуации в стадах необходимо использовать ПЦР, посев крови и молока с применением специальных стимуляторов роста и питательных сред.

**Ключевые слова:** туберкулез крупного рогатого скота, дефектная клеточная стенка, скрытый туберкулез.

### Summary

The genome of tuberculosis mycobacterium (MTB) was detected in ultrapasteurized milk from countries that have and do not have free status from bovine tuberculosis. Also cell wall deficient (CWD) MTB were isolated from all milk samples, that indicates latent tuberculosis infection in herds supplying milk to dairy enterprises.

It was found that ultrasmall (less than 0.22 μm) thermally stable protective forms of MTB were present in milk. They can restore viability as CWD MBT and possibly play a role in the induction of oncogenesis and other pathological conditions.

The existing criteria determining the status of herds do not allow the detection of latent tuberculosis infection, since persistent CWD (L-) forms of MBT do not cause the development of macroscopic changes and hypersensitivity to tuberculin. To identify the real situation in the herds, it is necessary to use PCR and to inoculate special nutrient media with blood and milk mixed with mycobacterial growth stimulants.

**Keywords:** bovine tuberculosis, cell wall deficient mycobacteria, latent tuberculosis

Поступила в редакцию 15.07.2021 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Туберкулез крупного рогатого скота был широко распространен в странах с развитым скотоводством. Даже в середине XX века во Франции было инфицировано 8,2 % коров, в Италии – 25 %, в Испании – 12 %, в Англии – 18 % [1]. Реализация национальных программ борьбы с туберкулезом, в основе которых была проба с туберкулином и убой выявленных инфици-

цированных коров, позволила оздоровить ряд стран Европы. В 2005 г. Австрия, Бельгия, Германия, Дания, Люксембург, Нидерланды, Словакия, Чехия, Швеция, Франция, Финляндия имели статус стран, официально свободных от туберкулеза крупного рогатого скота.

Опасность туберкулеза состоит не только в том, что он снижает продуктивность крупного рогатого скота и может вы-

зывать гибель животных, но и в том, что инфицированные и больные коровы активно выделяют *Mycobacterium bovis* с молоком. До широкого внедрения в 20–30 годы XX века термического обеззараживания молока до 30 % случаев туберкулеза человека (в том числе смертности детей младше 5 лет) были связаны с заражением микобактериями туберкулеза бычьего вида (МБТ). В частности, в 1900 г. в США от туберкулеза умерло 148 000 человек, 50 000 из них были поражены *M. bovis* [2, 3]. В настоящее время молоко также остается важным фактором переноса МБТ. Сообщается о выделении *M. bovis* из сырого молока у коров неблагополучных стад в ряде стран Южной Америки, Африки и Азии [4, 5]. Безусловно, почти все молоко подвергается термическому обеззараживанию. Используются длительный (30 мин) – при 63–65 °С, кратковременный (15–20 с) – при 72–75 °С и моментальный – при 85–90 °С режимы пастеризации. В последнее время все чаще применяют ультрапастеризацию, при которой молоко на 1–2 секунды нагревают до 135–150 °С и сразу охлаждают до 4–5 °С, что позволяет увеличить срок хранения до 6 месяцев. Вместе с тем в последнее время установлено, что пастеризация не обеспечивает полной биологической безопасности молока. Жизнеспособные микобактерии, в частности *M. avium subspecies paratuberculosis* и их геном, были обнаружены в 10,3 % допущенных к реализации упаковок полуобезжиренного пастеризованного молока [6]. Естественно, возникает вопрос о том, насколько существующие критерии благополучия стад обеспечивают биологическую безопасность молочных продуктов. Установлено, что источником туберкулезной инфекции могут быть не только явно больные животные, но и реагирующие на туберкулин коровы из стад с неопределенным статусом по туберкулезу. Как правило, у них не обнаруживают туберкулезные изменения, а при рутинном бактериологическом исследовании патологического материала не выделяют МБТ. Однако использование полимеразной цепной реакции (ПЦР) и специ-

альных методов бактериологического посева показало, что в 75 % образцов молока от таких коров присутствует ДНК МБТ, и из них можно выделить некислоустойчивые (НКУ) МБТ с дефектной клеточной стенкой (cell wall deficient – CWD) – своеобразный бактериологическим маркер туберкулезной инфекции [7]. Более того, применение методов обнаружения генома МБТ показало, что статус стран и стад, официально признанных свободными от туберкулеза крупного рогатого скота, не гарантировал реальную ликвидацию туберкулезной инфекции. ДНК *M. bovis* была обнаружена в 5 % проб ультрапастеризованных молочных продуктов в супермаркетах Испании, из которых 89,9 % были произведены в Испании, 6,6 % – во Франции, 0,8 % – в Ирландии, 0,4 % – в Италии, 0,8 % – в Германии, 0,8 % – в Нидерландах, 0,8 % – в Швейцарии [8]. То есть критерии благополучия стад и статуса здоровья животных (отсутствие животных с явными признаками болезни и отрицательные результаты внутрикожной аллергической пробы с туберкулином) явно не учитывают возможность скрытой персистенции МБТ, в том числе в виде НКУ CWD-или L-форм [9, 10], которые, как правило, не вызывают гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к классическому туберкулину [11, 12]. Тем не менее, у таких инфицированных животных могут быть обнаружены специфические антитела, антигены МБТ и их комплексы, ДНК МБТ и даже ГЗТ, но к туберкулину из L-форм МБТ [9, 10, 12, 13]. Наряду с этими фактически индивидуальными показателями статуса здоровья, глобальным маркером скрытой туберкулезной инфекции и показателем биологической безопасности молока может стать исследование больших объемов сборного молока, полученного в определенных регионах, в том числе ультрапастеризованного в коммерческих упаковках, что особенно актуально в связи с экстремальной терморезистентностью МБТ [14].

**Цель работы** – обнаружение маркеров туберкулезной инфекции в ультрапастеризованном молоке, произведенном в

странах с разным статусом по туберкулезу крупного рогатого скота.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали 5 упаковок ультрапастеризованного молока (коммерческие названия скрыты): «E3%Sw» (Швеция), «La» (Латвия), «JU», «SU», «DU» (Украина), а также пробу «Ne» сборного молока от коров благополучного региона, подвергнутую ультрапастеризации.

Пробы «E3%Sw», «La», «JU», «SU», «DU» в стерильных пробирках Эппендорфа прогрели 15 мин при температуре 99 °С на ThermoCycler Biosan, смешали 1:3 со стимулятором роста MucCel DW [10].

I часть пробы «Ne» («Ne-chg») смешали (1:2) со стимулятором роста MucCel DW (с 0,05 % хлоргексидина), II часть («Ne 0.22») профильтровали через стерилизующий фильтр Millex GP 0.22 µm, III часть («Ne 97/0.22») прогрели при температуре 97 °С 10 мин и профильтровали через фильтр Millex GP 0.22 µm. После этого части «Ne 0.22», «Ne 97/0.22» смешали со стимулятором роста MucCel DW (1:3) [10].

Все пробы со стимуляторами роста инкубировали 24 ч при температуре 37 °С и по 0,3 мл сеяли на пробирки с питательной средой MucCel DW [10].

Посевы инкубировали при температуре 37 °С. При отсутствии роста колоний через 1-2 дня делали «слепые» пересевы на среде MucCel DW.

**Мазки** изолятов окрашивали по Kinyoun, а также дифференцирующим иммунопероксидазным методом (ДИП), включавшим инактивацию эндогенной пероксидазы (3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), окраску по Kinyoun, обработку конъюгатом пероксидазы с аффинно очищенными антителами к *M. bovis* и проявление субстратным раствором 3,3'-диаминобензидина с H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [15].

**ПЦР.** Осадок молока после центрифугирования (3000 g), а также бактериальную массу изолятов (0,2–0,5 мг/мл) суспендировали в лизирующем буфере (ИБОХ НАНБ) и прогревали 5 мин при температуре 95 °С. ДНК выделяли на аффинных колонках (ИБОХ НАНБ) и исследовали с

праймерами *Mycobacteria* 16S RNA, MPB64, MPB70, а также IS6110 (в ПЦР в реальном времени – ПЦР-RT). Амплификацию проводили на C1000TM ThermoCycler (BioRad) и на CFX96™ Real-Time System (BioRad). Продукты амплификации детектировали в электрофорезе в 2%-ной агарозе (Sigma), результаты учитывали на Molecular Imager GelDoc™ XR + (BioRad).

### Антигенный состав изолятов.

Изоляты выращивали на среде MucCel DW. Бактериальную массу отмывали центрифугированием в 1%-ном растворе фенола и дезинтегрировали на Bandlerin Sonopuls 2400 (4 цикла по 5 мин). Антигенный состав соникатов изолятов изучали в реакции иммунодиффузии (РИД) в ракетном иммуноэлектрофорезе (РИЭФ) [16] и в непрямом иммуноферментном анализе (ИФА) с антисыворотками к *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv и *M. bovis* 8 (типичные формы), CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv (получен экспериментально), к CWD МБТ FLK-BLV HC 022 [17, 18]. В качестве контроля использовали соникаты *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv и *M. bovis* 8 (типичная форма), CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv и разных штаммов CWD *M. bovis* [18, 19], а также изоляты (Is CWD МБТ «Jurkat», Is «Jurkat II 0.22 100 kDa + 0.22») из линии перевиваемых Т-лимфоцитов (Jurkat) больного Т-лимфобластной лейкемией [20].

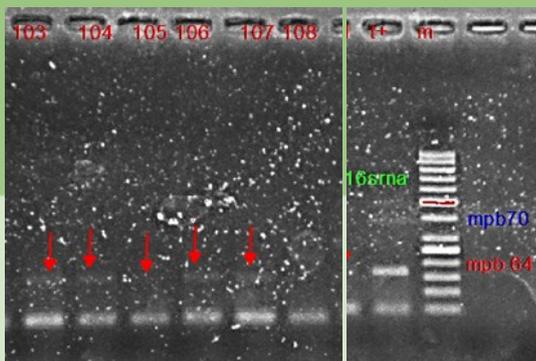
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

ДНК из проб молока «E3%Sw», «La», «JU», «SU», «DU» дала в ПЦР слабоположительный результат с праймерами MPB64 (рисунок 1, таблица 1). ДНК пробы «Ne» реагировала в ПЦР с праймерами MPB64 и в ПЦР-RT с праймерами IS6110 (рисунок 2, таблица 1).

Пробы молока «Ne» как после обработки хлоргексидином («Nech-g»), фильтрации через фильтр 0,22 µm («Ne 0.22»), так и после прогревания (97 °С) с последующей стерилизующей фильтрацией («Ne 97/0.22») во II «слепом» пересеве дали рост на среде MucCel DW. В мазках обнаружены клетки с типичным для CWD МБТ полиморфизмом, специфически окраши-

вавшиеся ДИП-методом с использованием антител к *M. bovis* в коричневый цвет (рисунок 3). ДНК изолятов реагировала в

ПЦР с праймерами MPB64 и MPB70 (рисунок 4, таблица 1).



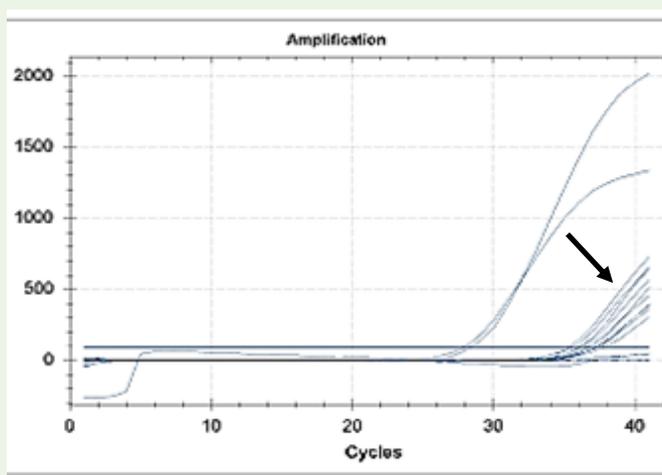
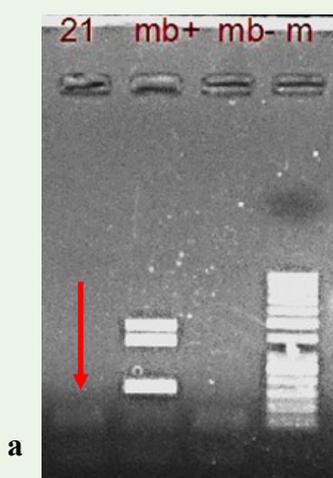
103 – «E3%Sw»; 104 – «La»; 105 – «JU»;  
106 – «SU»; 107 – «DU»;  
108 – отрицательный контроль;  
t+ – положительный контроль; m – маркер  
молекулярной массы. Красные стрелки –  
амплификаты, полученные с праймерами MPB64

**Рисунок 1. – Электрофорез  
амплификатов ДНК из проб молока**

Таблица 1. – Результаты исследования ультрапастеризованного молока

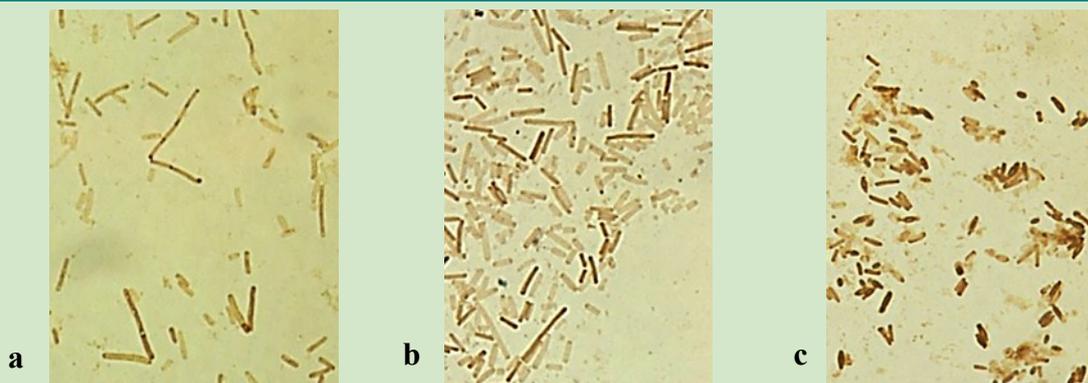
№ пробы	Пробы молока	ПЦР с ДНК из молока	Рост в исходном посеве	Рост в «слепо» пересеве	ПЦР + с ДНК изолята
103	«E3%Sw»	MPB64+	–	II	IS6110 Cq 35.17
104	«La»	MPB64+	на 2-й день		IS6110 Cq 34.17
105	«JU»	MPB64+	–	III	IS6110 Cq 34.03
106	«SU»	MPB64+	–	II	IS6110 Cq 34.13
107	«DU»	MPB64+	–	II	IS6110 Cq 34.01 MPB64±
21	«Ne»	MPB64+, IS6110+	*	*	*
31	«Nech-g»	–	–	II	MPB64+, MPB70+
32	«Ne 0.22»	–	–	II	MPB70+
33	«Ne 97/0.22»	–	–	III	MPB64+

Примечание – \*не исследовали



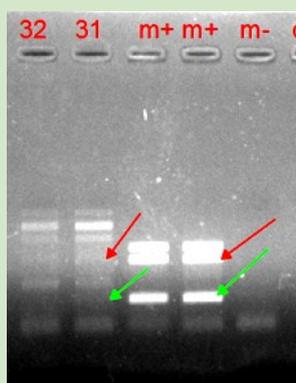
a – электрофорез амплификатов ДНК из пробы молока «Ne» (№ 21):  
mb+ – положительный контроль; mb- – отрицательный контроль;  
m – маркер молекулярной массы; стрелка – амплификат с праймерами MPB64;  
b – результат ПЦР-RT с праймерами IS6110

**Рисунок 2. – Идентификация ДНК из молока «Ne»**



a – «Ne ch-g»; b – «Ne 0.22»; c – «Ne 97/0.22»; ДИП-окраска, 10×100

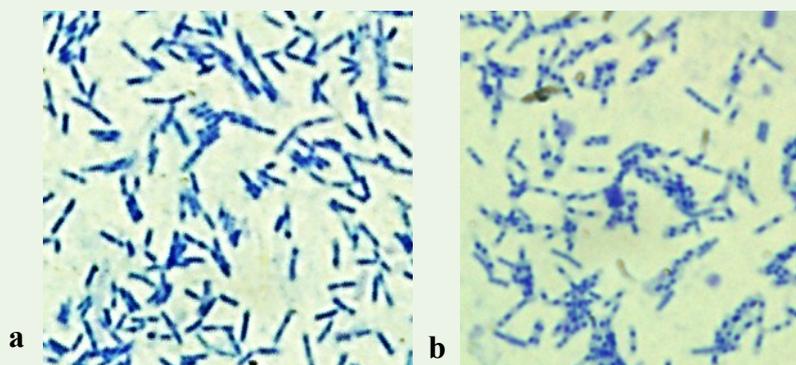
**Рисунок 3. – Рост на среде MucCel DW проб молока**



32 – «Ne 0.22» (MPB 70+ черная стрелка);  
31 – «Ne ch-g» (MPB 70+ красная стрелка;  
MPB 64+ зеленая стрелка); m+ – положительный  
контроль; m- – отрицательный контроль

**Рисунок 4. – Амплификаты ДНК  
изолятов из проб молока**

Пробы ультрапастеризованного молока «E3%Sw», «La», «JU», «SU», «DU» дали рост во II–IV «слепом» пересеве полиморфных НКУ форм, который появился через 3–20 дней (таблицы 1 и 2, рисунок 5).



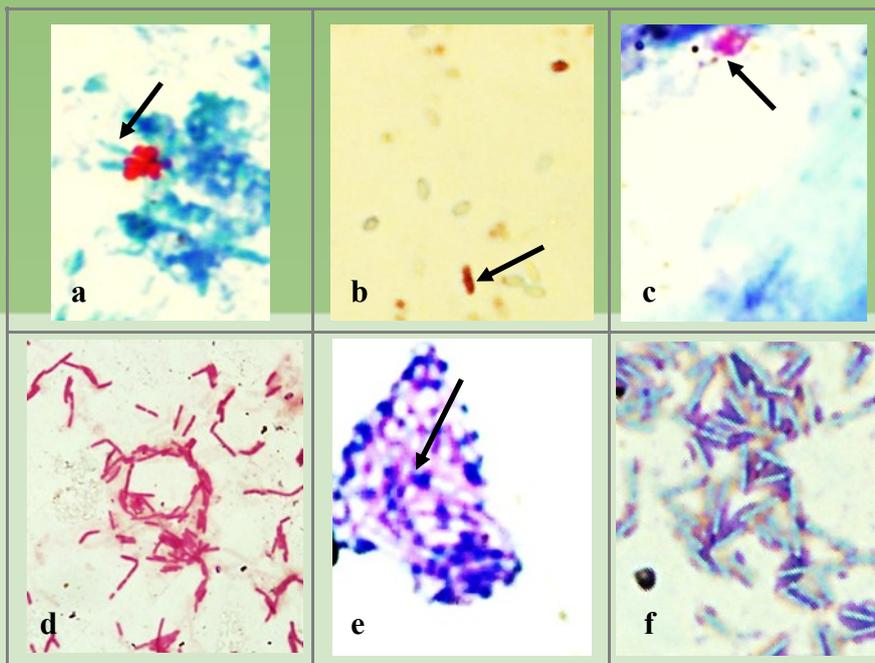
a – изоляты из молока «La»;  
b – изоляты из молока «E3%Sw»;  
Kinyoun, 10×100

**Рисунок 5. –  
Некислотоустойчивые  
формы**

На разных этапах культивирования в изолятах наряду с НКУ формами были обнаружены частично кислотоустойчивые (ЧКУ) красного цвета клетки (рисунок 6).

Кроме того, отмечалось характерное для CWD МБТ изменение морфологии клеток при пересевах, и в разных изолятах можно было обнаружить клетки одинаковой формы. Так, при длительном культивировании при температуре 37 °С без пересева почти все клетки становились «пусты-

ми», а среди них встречались единичные длинные нитевидные и толстые слабоокрашенные палочковидные формы (таблица 2). После пересева «пустые» и нитевидные клетки исчезали, в популяциях всех изолятов превалировали короткие палочковидные формы, которые в течение последующих суток трансформировались в характерные для CWD МБТ полиморфные палочковидные формы (таблица 2).

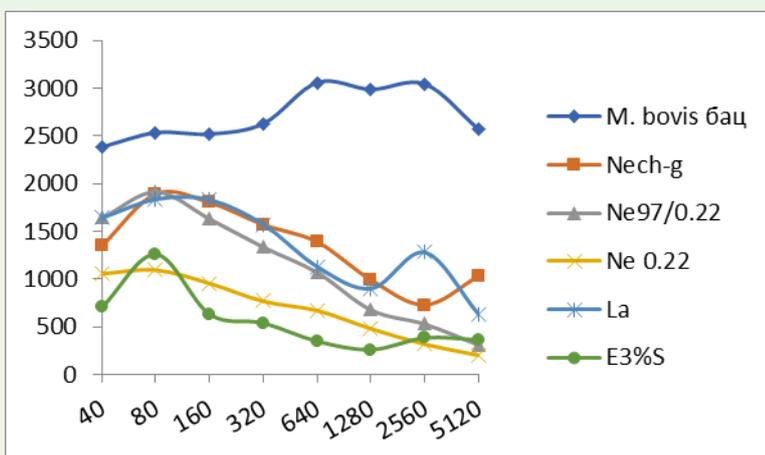


a – «Ne 0.22»;  
 b – «La», c – «DU»;  
 d и e – «Ne 97/0.22»;  
 f – «E3%Sw»;  
 Kinyoun, 10×100  
**Рисунок 6. – Частично  
 кислотоустойчивые  
 клетки (стрелки)  
 в посевах**

Соникаты изолятов из молока интенсивно реагировали в ИФА с антисывороткой к типичному штамму *M. bovis* 8, давая позитивные реакции даже при ее разведении 1:5120 (рисунок 7). В РИД с антисыворотками к *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv и к *M. bovis* 8 они образовывали 2–4 плавно сливающихся преципитата (рисунок 8). Изоляты из молока имели практически одинаковый антигенный состав с экспериментально полученными CWD-формами *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv и *M. bovis* 8. Так, в ИФА с антисывороткой к CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv соникаты изолятов из молока реагировали так же интенсивно, как и гомологичный антисыворотке соникат CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv (таблица 3).

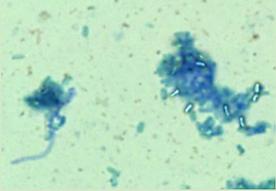
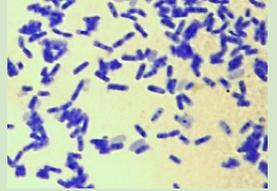
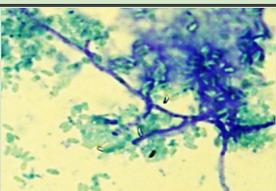
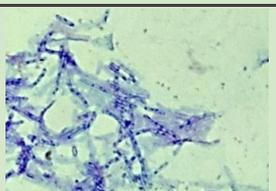
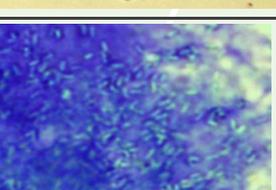
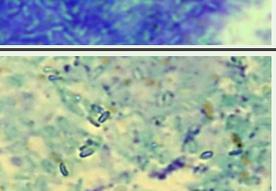
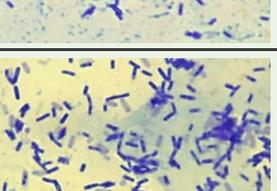
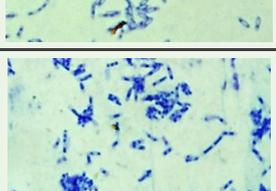
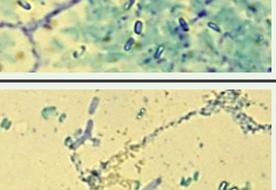
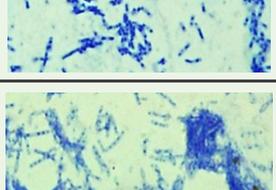
Антигенный состав изолятов из молока практически не отличался от состава

WD штаммов *M. bovis*, выделенных из лимфатического узла коровы с туберкулезными изменениями (CWD *M. bovis* tbc 24), а также из почвы, контаминированной *M. bovis* 8, инаktivированного дезинфектантами (Is CWD *M. bovis* 8/1703, Is CWD *M. bovis* 8/1, Is CWD *M. bovis* 8/2/2) [19] (рисунок 9). Необходимо отметить, что одинаковый антигенный состав был у изолятов, выделенных из пробы «Ne», деконтаминированной разными способами (обработка хлоргексидином, фильтрация через фильтр 0,22 μm, прогревание при 97 °C и фильтрация через фильтр 0,22 μm) (рисунок 10). Было показано, что незначительные различия антигенного состава у изолятов касались лишь концентрации антигенов, что проявлялось в разной высоте пиков в РИЭФ (рисунки 11, 15).

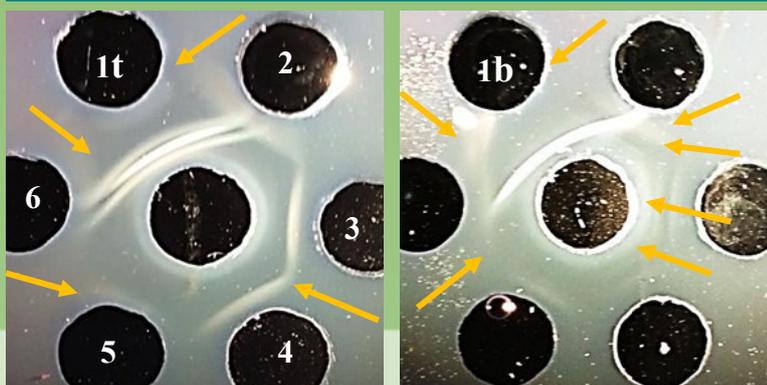


Ось абсцисс – разведения антисыворотки *M. bovis* 8;  
 ось ординат – ОП при 450 нм  
**Рисунок 7. – ИФА соникатов  
 изолятов из молока и сониката  
 типичного штамма *M. bovis* 8  
 (бациллярный) с антисывороткой  
 к *M. bovis* 8**

Таблица 2. – Изменение морфологии изолятов из молока при культивировании без пересева, через 20 ч и 48 ч после пересева на среде МусСел DW

	Без пересева	Через 20 ч после пересева	Через 48 ч после пересева
a			
b			
c			
d			
e			
f			
g			

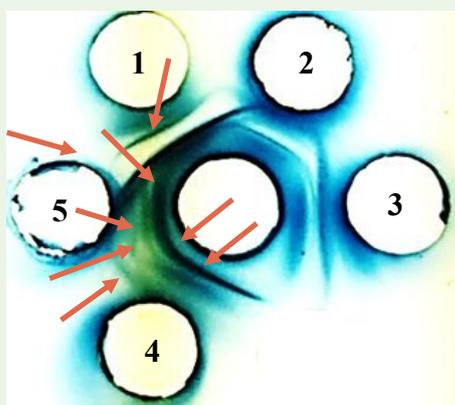
Примечание: a – «Nech-g»; b – «Ne 0.22»; c – «Ne 97/0.22»; d – «La»; e – «DU»; f – «SU»; g – «E3%Sw» (ряды изолятов); Kinyoun; 10×100



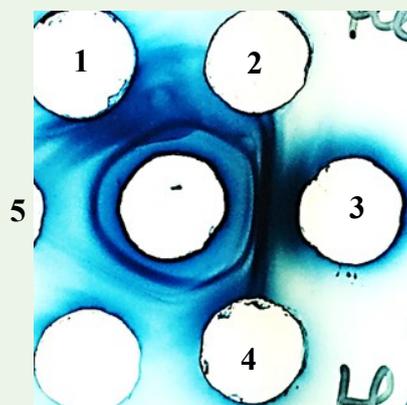
1t – *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv;  
 1b – *M. bovis* 8 и изолятами;  
 2 – «Nech-g»; 3 – «Ne 0.22»;  
 4-5 – «La»; 6 – «E3%Sw»  
 (расположение одинаковое)  
**Рисунок 8. – РИД антисывороток  
 (в центре) к *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv  
 и к *M. bovis* 8 с сониками**

Таблица 3. – Превышение ОП в ИФА соникатов изолятов из молока с разведениями антисыворотки к CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv в сравнении с ОП отрицательной сыворотки (S/neg)

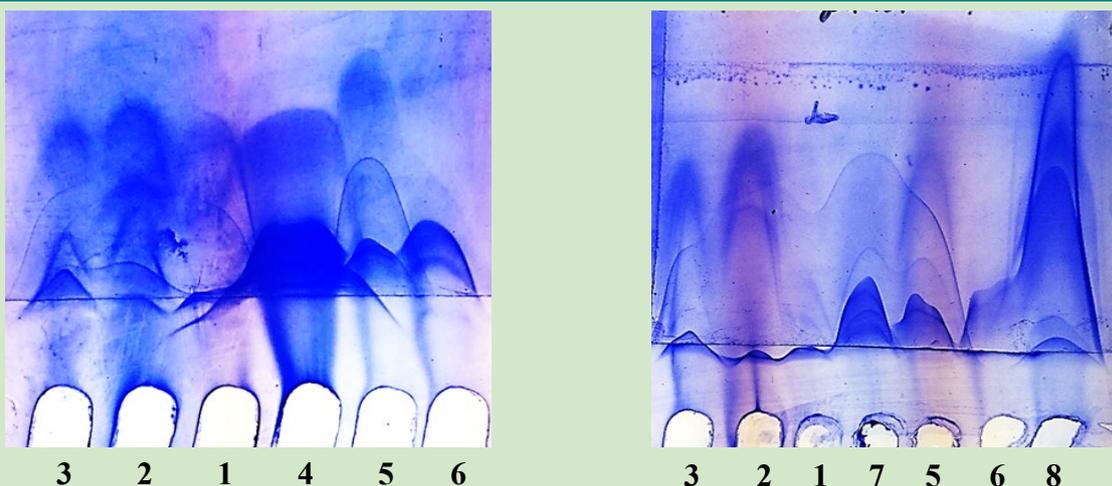
Разведение	Соникаты изолятов из молока					
	«Nech-g»	«Ne 0.22»	«Ne 97/0.22»	«La»	«E3%Sw»	CWD <i>M. tuberculosis</i> H <sub>37</sub> Rv (контроль)
1:40	2,3	2,2	2,7	2,9	8,3	2,5
1:80	2,5	3,9	4,3	2,1	10,0	2,7
1:160	5,0	5,3	6,4	3,5	10,2	3,1
1:320	7,9	8,4	11,7	6,2	16,3	7,0
1:640	7,9	12,2	15,5	7,5	16,5	8,6
1:1280	9,5	16,2	24,1	8,1	16,0	14,2
1:2560	8,8	21,7	17,5	8,7	14,7	11,6
1:5210	14,3	20,1	19,7	13,8	16,4	13,4



1 – CWD *M. bovis* tbc 24; 2 – Is CWD  
*M. bovis* 8/1703; 3 – Is CWD *M. bovis* 8/1;  
 4 – Is CWD *M. bovis* 8/2/2;  
 5 – Is «E3%Sw»; стрелки – преципитаты  
 идентичных антигенов у штаммов  
 CWD *M. bovis* и Is «E3%Sw»  
**Рисунок 9. – РИД антисыворотки  
 к CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv (в центре)  
 с сониками (в периферических лунках)**



1 – CWD *M. bovis*; 2 – Is «Nech-g»;  
 3 – Is «Ne 97/0.22»; 4 – Is «Ne 0.22».  
 Плавное слияние всех преципитатов  
**Рисунок 10. – РИД антисыворотки к CWD  
 МБТ FLK-BLV HC 0.22 (в центре)  
 с сониками (в периферических лунках)**



1 – Is «Nech-g»; 2 – Is «Ne 0.22»; 3 – Is «Ne 97/0.22»; 4 – CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv; 5 – Is «E3%Sw»; 6 – Is «La»; 7 – Is «Ag BLV HC 0.22»; 8 – Is «Ser BLV 52».

В левой части в агарозе антисыворотка к CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv,  
в правой части – к CWD МБТ FLK-BLV HC 0,22

**Рисунок 11. – РИЭФ соникатов**

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При исследовании ультрапастеризованного молока положительные результаты ПЦР с праймерами для выявления генома МБТ оказались неожиданными. Это касалось не только молока, произведенного в странах, не имеющих статуса благополучия, но и в странах, считающихся оздоровленными от туберкулеза крупного рогатого скота. Хотя результаты ПЦР были недостаточно четкими и их можно было признать сомнительными, корректность обнаружения генома МБТ была подтверждена выделением из всех проб ультрапастеризованного молока НКУ (CWD) форм МБТ.

Изоляты были выделены из ультрапастеризованного молока, которое для деконтаминации прогрели 15 мин при температуре 99 °С, поскольку только МБТ могут

восстановить жизнеспособность в виде CWD-форм после такого термического воздействия [14]. Необходимо отметить, что инфекционный агент, находившийся в молоке, был в фильтрующейся вирусоподобной форме, так как рост CWD МБТ был получен при посеве молока, пропущенного через фильтр 0,22 μm. Существование фильтрующихся форм МБТ уже не вызывает сомнений [21, 22]. В частности, нами (не-опубликованные данные) также были обнаружены фильтрующиеся формы МБТ размером порядка 0,1 μm (рисунок 12). Но фильтрующиеся формы, находившиеся в молоке, были еще и термостабильными, так как CWD МБТ были выделены и из проб молока, предварительно прогретых при температуре 97 °С и пропущенных через фильтр 0,22 μm.

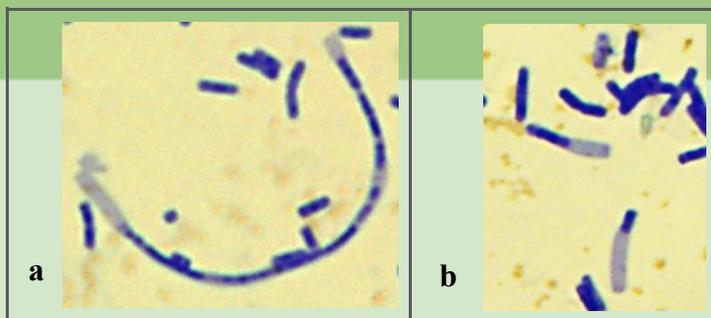


**Рисунок 12. – Электронная микроскопия *M. bovis*. Заметны фильтрующиеся формы (стрелки). Совместные исследования с INTA (Argentina)**

bar 1 μ

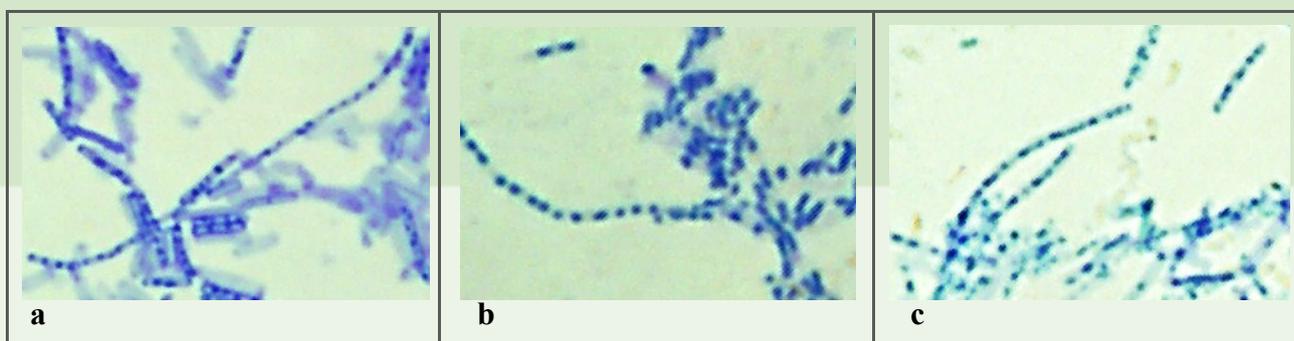
Изоляты из ультрапастеризованного молока имели характерный для CWD МБТ полиморфизм [10, 22, 23], который был, в частности, связан с тем, что в процессе роста и деления клетки могли образовывать другие клетки с отличающейся морфологи-

ей (рисунок 13), причем в изолятах из молока, произведенного в разных странах, можно было обнаружить клетки одинаковой формы (таблица 2, рисунок 14), в том числе частично кислотоустойчивые (рисунок 6).



a – Is «Ne 0.22»; b – Is «DU»; Kinyoun, 10×100

**Рисунок 13. – Образование клеток разной морфологии (стрелки)**



a – Is «Ne 0.22»; b – «Is La»; c – Is «E3%Sw»; Kinyoun, 10×100

**Рисунок 14. – Длинные нитевидные формы с зернистостью**

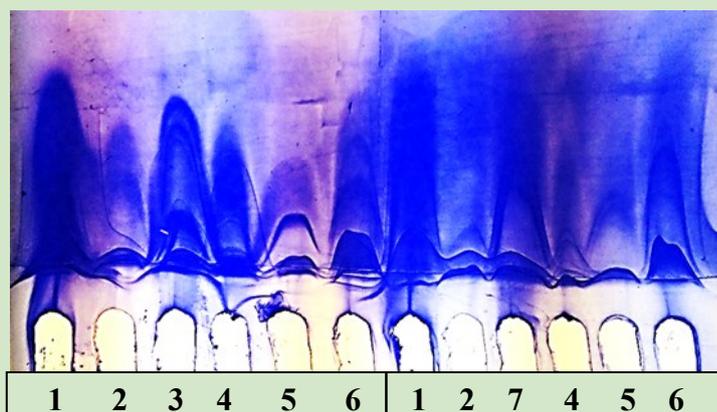
Результаты ПЦР свидетельствовали о происхождении изолятов от МБТ комплекса *tuberculosis-bovis* (наиболее вероятно, от *M. bovis*). Это подтверждает установленное в ИФА и в РИД приблизительное 50%-ное антигенное родство с типичными МБТ, что коррелирует с ранее установленной степенью изменения антигенного состава при экспериментальной трансформации *M. bovis* в CWD-форму [24]. Необходимо отметить, что у микроорганизмов, не относившихся к роду *Mycobacterium*, у которых было обнаружено антигенное родство с *M. bovis*, этот показатель с *Nocardia asteroidis* не превышал 20,5 %, а с *Corynebacterium pyogenes* – 4,6 % [25]. Важным моментом было и то, что антигенный состав изолятов из молока был практически идентичен антигенному составу экспериментально полученных и выделенных CWD штаммов *M. bovis*.

Тот факт, что изоляты из одной и

той же пробы молока, деконтаминированной хлоргексидином, пропущенной через стерилизующий фильтр (0,22  $\mu\text{m}$ ), прогретой при 97 °C и фильтрованной через стерилизующий фильтр (0,22  $\mu\text{m}$ ), имели идентичный антигенный состав, подтверждает предположение о том, что инфекционный агент, находившийся в ультрапастеризованном молоке, представлял собой термостабильную вирусоподобную (защитную) форму. Такие формы при подъеме температуры успевают образовать гибнущие вегетативные КУ и НКУ формы МБТ [14, 26]. В наших исследованиях защитные формы, находившиеся в ультрапастеризованном молоке, восстанавливали жизнеспособность в виде НКУ CWD-форм МБТ после инкубации проб в стимуляторе роста и посева смеси на питательную среду МусСел DW [14, 26]. Однако защитные формы МБТ могут восстанавливать жизнеспособность и при попадании в организм

[14]. То есть молоко, даже ультрапастеризованное, в котором есть защитные формы МБТ, биологически небезопасно. Хотя CWD-изоляты из молока не вызывали гибель лабораторных мышей, они приживались и персистировали в организме животных (результаты биопроб не приведены). С одной стороны, пока еще нет достоверных экспериментальных доказательств возможности реверсии восстановивших жизнеспособность CWD МБТ в патогенную форму, также нет подтверждения их роли в реци-

дивах туберкулеза. Но уже достаточно давно получены доказательства их участия в индукции онкогенеза [27], а также других патологических состояний [23, 28, 29]. В связи с этим обращает внимание тот факт, что изоляты из молока имели практически идентичный антигенный состав с изолятами из культуры клеток FLK-BLV и линии перевиваемых Т-лимфоцитов человека (Jurkat), больного Т-лимфобластной лейкемией (рисунок 15, видно образование плавно сливающихся преципитатов).



1 – Is CWD МБТ «Jurkat» [21]; 2 – Is «E3%Sw»; 3 – CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv; 4 – Is «DU»; 5 – «Is SU»; 6 – Is «Jurkat II 0.22 100 kDa + 0.22» [21]. В левой части – в агарозе а/с к CWD *M. tuberculosis* H<sub>37</sub>Rv, в правой – к CWD МБТ FLK-BLV HC 0.22 [17, 18]

**Рисунок 15. – РИЭФ соникатов**

В целом полученные результаты показали:

- присутствие маркеров туберкулезной инфекции в молоке из стран как со статусом благополучия, так и не имеющих его указывает на скрытую туберкулезную инфекцию в каких-то стадах, являющихся источником поставки молока на молокоперерабатывающее предприятие;

- критерии благополучия стад (отсутствие патоморфологических признаков болезни и выявления реагирующих на туберкулин коров при 2 исследованиях с интервалом в 6 месяцев) не позволяют судить об отсутствии скрытой туберкулезной инфекции. Это связано с тем, что персистирующие в CWD- или L-формах МБТ не вызывают развития макроскопических изменений и гиперчувствительности к классическому туберкулину;

- для оценки реальной ситуации в

стадах целесообразно использовать ПЦР, посев крови и молока с применением специальных стимуляторов роста и соответствующих питательных сред, а также ИФА с набором антигенов типичных и CWD МБТ;

- термическая обработка молока инактивирует микобактерии туберкулеза, но не действует на образующиеся термостабильные защитные формы;

- фильтрация через стерилизующие фильтры 0,22 μm не позволяет удалить из молока защитные формы МБТ;

- защитные формы МБТ восстанавливают жизнеспособность в виде НКУ CWD МБТ, способных длительно персистировать в организме без развития макроскопических изменений, хотя не исключена их роль в индукции онкогенеза и других патологических состояний неясной этиологии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Юсковец, М. К. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птиц / М. К. Юсковец. – Минск : Государственное издательство сельскохозяйственной литературы БССР, 1962. – 447 с.
2. Olmstead, A. L. *An Impossible Undertaking: The Eradication of Bovine Tuberculosis in the United States* / A. L. Olmstead, P. W. Rhode // *The Journal of Economic History*. – 2004. – Vol. 64. – № 3. – P. 734–772.
3. Palmer, M. V. *Bovine Tuberculosis and the Establishment of an Eradication Program in the United States: Role of Veterinarians* / M. V. Palmer, W. R. Waters // *Veterinary Medicine International*. – 2011. – Vol. 2011. – P. 1–12.
4. *Diagnosis of mycobacteria in bovine milk: an overview* / C. A. D. Bolaños [et al.] // *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. – 2017. – Vol. 59. – P. 1–13.
5. *Nontuberculous mycobacteria in milk from positive cows in the intradermal comparative cervical tuberculin test: implications for human tuberculosis infections* / C. A. D. Bolaños [et al.] // *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. – 2018. – Vol. 60. – P. 6.
6. *Survival of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in retail pasteurised milk* / Z. E. Gerrard [et al.] // *Food Microbiology*. – 2018. – Vol. 74. – P. 57–63.
7. Оценка эффективности термического обеззараживания молока туберкулин-положительных коров с использованием методов детекции CWD форм микобактерий туберкулеза / А. П. Лысенко [и др.] // *Экология и животный мир*. – 2017. – № 1. – С. 41–48.
8. *Detection of Mycobacteria by Culture and DNA-Based Methods in Animal-Derived Food Products Purchased at Spanish Supermarkets* / I. A. Sevilla [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 1030.
9. Иммуноферментный анализ в изучении причин реакций на туберкулин у коров / А. П. Лысенко [и др.] // *Основные направления развития ветеринарной науки : материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 90-летию РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселского»* / Минск : РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеселского», 2013. – С. 128–137.
10. Феномен изменчивости микобактерий туберкулеза и его использование для обнаружения туберкулезной инфекции / А. П. Лысенко [и др.] // *Туберкулез – глобальная катастрофа человечества : материалы I Междунар. заочной науч.-практ. конф., 24 марта 2014 г. / Ростов-на-Дону : РостГМУ, 2014. – С. 176–198.*
11. Chandrasekhar S. *Studies on cell-wall deficient non-acid fast variants of Mycobacterium tuberculosis* / S. Chandrasekhar, S. Ratnam // *Tubercle and Lung Disease*. – 1992. – Vol. 73. – № 5. – P. 273–279.
12. *Cell wall deficient forms of mycobacteria: a review* / V. Beran [et al.] // *Veterinární Medicina*. – 2012. – Vol. 51. – № 7. – P. 365–389.
13. Сырым, Н. С. Аллерген из Л-форм микобактерий бычьего вида для диагностики скрытой формы туберкулеза : автореф. дис. ... канд. ветеринар. наук : 16.00.03 / Н. С. Сырым. – Алматы, 2004. – 19 с.
14. *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.
15. Выявление микобактерий туберкулеза в тканях с помощью дифференцирующей иммунопероксидазной окраски / А. П. Лысенко [и др.] // *Туберкулез и болезни легких*. – 2014. – № 10. – С. 55–58.
16. *A manual of quantitative immuno-electrophoresis: methods and applications* / ed. N. H. Axelsen. – Oxford : Blackwell, 1977. – 169 p.
17. *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.
18. Вирус бычьего лейкоза – вирусоподобная форма микобактерий туберкулеза? / А. П. Лысенко [и др.] // *Экология и животный мир*. – 2019. – № 1. – С. 15–24.
19. Микобактерии туберкулеза после летального воздействия дезинфектантов могут восстанавливать жизнеспособность в виде микобактерий с дефектной клеточной стенкой / А. Э. Высоцкий [и др.] // *Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария*. – 2019. – № 2. – С. 26–35.

20. Investigation of the relationship of latent tuberculosis infection with the development of myeloid and lymphoblastic leukemia / O. P. Lysenko [et al.] // Reports of Vinnytsia National Medical University. – 2020. – Vol. 24. – № 1. – P. 51–58.

21. Markova, N. Filterable forms and L-forms of Mycobacterium bovis BCG : impact for live vaccine features / N. Markova, G. Slavchev, L. Michailova // Human Vaccines & Immunotherapeutics. – 2012. – Vol. 8. – № 6. – P. 759–764.

22. Markova, N. Unique biological properties of Mycobacterium tuberculosis L-form variants: impact for survival under stress / N. Markova, G. Slavchev, L. Michailova // International Microbiology: The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology. – 2012. – Vol. 15. – № 2. – P. 61–68.

23. Mattman, L. H. Cell wall deficient forms: stealth pathogens / L. H. Mattman. – 3 rd ed. – Boca Raton : CRC Press, 2001. – 416 p.

24. Особенности антигенного состава измененных форм микобактерий туберкулеза / А. П. Лысенко [и др.] // Проблемы туберкулеза и болезней легких. – 2010. – № 10. – С. 54–58.

25. Cross-reactions between mycobacteria. II. Crossed immunoelectrophoretic analysis of soluble antigens of BCG and comparison with other mycobacteria / M. Harboe [et al.] // Scandinavian journal of immunology. – 1979. – Vol. 9. – № 2. – P. 115–124.

26. Микобактерии туберкулеза при термическом воздействии образуют защитные формы, проходящие через ультрафильтры и восстанавливающие жизнеспособность в виде CWD-форм / А. П. Лысенко [и др.] // Эпизоотология, иммунология, фармакология, санитария. – 2019. – № 1. – С. 33–45.

27. Diller, I. Experiments with mammalian tumor isolates / I. Diller // Ann NY Acad Sci. – 1970. – № 174. – P. 655–674.

28. Livingston, V. Mycobacterial Forms In Myocardial Vascular Disease / V. Livingston, E. Alexander-Jackson // Journal of the American Medical Women's Association. – 1965. – Vol. 20. – P. 449–452.

29. Cantwell, A. R. Variably acid-fast bacteria in a fatal case of Hodgkin's disease / A. R. Cantwell // Archives of Dermatology. – 1984. – Vol. 120. – № 3. – 401 p.

**ТАЛПАН**

**ПРЕПАРАТ ВЕТЕРИНАРНЫЙ**

применяется для лечения пчел при варроатозе весной и в летне-осенний период после откачки товарного меда при температуре воздуха от плюс 10 °С до плюс 25 °С

содержит муравьиную и щавелевую кислоту

оказывает акарицидное контактное действие против взрослых форм клещей *Varroa destructor*, паразитирующих на пчелах

[WWW.BIEVM.BY](http://WWW.BIEVM.BY)

Кучинский М.П., доктор ветеринарных наук, профессор  
Сонов А.А., научный сотрудник  
Савчук Т.М., научный сотрудник  
Кучинская Г.М., научный сотрудник

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

## ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО ПРЕПАРАТА «КАЛЬЦЕМАГФОСВИТ» ПРИ ПАТОЛОГИИ ПОСЛЕРОДОВОГО ПЕРИОДА У КОРОВ

### Резюме

Приведены результаты научно-производственных опытов по оценке лечебной эффективности нового комплексного препарата на основе биоэлементов «Кальцемагфосвит» при послеродовой патологии у коров. Установлено, что терапевтическая эффективность кальцемагфосвита при послеродовом парезе составила 83,3 %, а при послеродовом залеживании – 87,5–88,9 %.

**Ключевые слова:** послеродовый парез, послеродовое залеживание, крупный рогатый скот, кальций, фосфор, магний.

### Summary

The results of scientific and industrial experiments on the assessment of the new complex preparation's therapeutic effect based on bioelements «Calcemagfosvit» in postpartum pathology in cows are presented. It was discovered that the therapeutic efficacy of calcemagfosvit in postpartum paresis was 83,3 %, and in postpartum retention – 87,5–88,9 %.

**Keywords:** postpartum paresis, postpartum deposition, cattle, calcium, phosphorus, magnesium.

Поступила в редакцию 14.10.2021 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Послеродовые заболевания коров имеют широкое распространение, поэтому находятся в центре внимания как научных исследователей, так и практикующих врачей ветеринарной медицины. Они часто приводят к нарушению воспроизводительной способности, бесплодию, снижению молочной продуктивности и преждевременной выбраковке, что негативно сказывается на экономических показателях сельхозпредприятий [2, 8, 9].

Этиология послеродовых заболеваний, как правило, весьма разнообразна, поэтому некоторые исследователи предлагают их рассматривать как локальное проявление полисистемной патологии [15].

Прямое и косвенное влияние биоэлементов и их соединений на процессы обмена веществ и воспроизводства извест-

но давно. Так, соли кальция применяют в акушерско-гинекологической практике при эндометритах, метритах, для стимуляции родовой деятельности и ускорения отделения последа у животных, для предупреждения аборт, при родильном парезе, послеродовой гематурии у коров [3, 6, 11]. При дефиците кальция у животных нарушается аппетит, появляется дрожание конечностей, частое переступание, в тяжелых случаях наступает фибриллярное подергивание мышц с последующим падением их тонуса, особенно связочного аппарата, нарушением координации движения, ослаблением рефлексов, залеживанием [3, 7, 10].

Магний в организме животных регулирует процессы фосфорного обмена, гликолиза, метаболизма белков, липидов, нуклеиновых кислот, поэтому необходим

для регуляции нервно-мышечной проводимости, тонуса гладкой мускулатуры, функционирования клеток, хранения и высвобождения АТФ, нормального обмена веществ [1, 4, 5]. Недостаток магния проявляется снижением содержания элемента в сыворотке крови и костях, повышенной нервной возбудимостью, шаткой походкой, дрожью, судорогами, а иногда и гибелью [3, 7, 13].

Фосфор входит в состав нуклеотидов, нуклеиновых кислот, фосфолипидов и участвует практически во всех физиологических процессах организма. Значительная часть энергии, образующейся при распаде углеводов и других соединений, аккумулируется в богатых энергией органических соединениях фосфорной кислоты (АТФ, АДФ). От фосфолипидов в значительной степени зависит синтез и функционирование мембран клеток, в том числе и половых [1, 5, 7, 12, 14].

Эффективность применения витаминных и минеральных препаратов при патологии родов и послеродового периода у коров подтверждена многими исследователями [2, 8, 11].

Следовательно, разработка и внедрение в ветеринарную практику новых препаратов для терапии и профилактики акушерско-гинекологических заболеваний у коров имеет большое теоретическое и практическое значение.

С учетом вышеизложенного нами разработан комплексный инъекционный препарат на основе солей кальция и магния, а также органического соединения фосфора – бутафосфана, глюкозы и аскорбиновой кислоты с названием «Кальцемагфосвит».

Доклинические испытания на лабораторных животных показали, что по показателям токсичности, фармакокинетическим и фармакодинамическим параметрам препарат может быть допущен к производственным испытаниям.

**Цель работы** – оценка лечебной эффективности нового комплексного препарата на основе неорганических и органических соединений биоэлементов «Кальцемагфосвит» при послеродовом парезе и послеродовом залеживании коров.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научно-производственные опыты по изучению терапевтической эффективности кальцемагфосвита при послеродовом парезе проводились на коровах в ОАО «Валище» Пинского района Брестской области, а при послеродовом залеживании – в МРУП «Агрокомбинат “Ждановичи”» Минского района Минской области и ОАО «Щомыслица» Минского района Минской области.

Испытуемый ветеринарный препарат «Кальцемагфосвит» изготовлен в отделе токсикологии и незаразных болезней животных РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелеского». По внешнему виду он представляет собой прозрачную бесцветную жидкость без механических включений. В своем составе препарат содержит кальций, магний, бутафосфан, глюкозу и кислоту аскорбиновую.

Соль кальция в виде глюконата предназначена для восполнения дефицита ионов данного элемента, которые необходимы для осуществления процесса передачи нервных импульсов, сокращения скелетных и гладких мышц, осуществления деятельности миокарда, формирования костной ткани, свертывания крови.

Магний в виде хлорида гексагидрата включен в препарат для устранения в организме животных его недостаточности, которая проявляется усилением проводимости и возбудимости нервных волокон, нарушением проницаемости мембран, механизмов мышечного сокращения, энергетического метаболизма, синтеза белков, нуклеиновых кислот.

Бутофосфан используется как органическое соединение фосфора. Представляет собой белый гигроскопичный порошок, хорошо растворимый в воде. После введения в организм животных быстро включается в метаболизм. Активизирует многие ферменты, усиливает обменные процессы, выработку аминокислот и белков.

Глюкоза добавлена в качестве источника легкоусвояемых углеводов для

усиления окислительно-восстановительных процессов в организме, улучшения антитоксической функции печени, усиления сократительной деятельности миокарда.

Кислота аскорбиновая предназначена для профилактики её дефицита в организме животных. Известно, что витамин С участвует в окислительно-восстановительных реакциях, регуляции углеводного обмена, влияет на обмен аминокислот ароматического ряда, метаболизм тироксина, биосинтез катехоламинов, стероидных гормонов и инсулина, необходим для свертывания крови, синтеза коллагена и проколлагена, регенерации соединительной и костной ткани. Улучшает проницаемость капилляров, принимает участие в синтезе гемоглобина, оказывает неспецифическое общестимулирующее влияние. В организме кислота аскорбиновая не синтезируется, а при таких состояниях, как интенсивный рост, высокая продуктивность, большие физические нагрузки, реконвалесценции после тяжелых заболеваний, лихорадочные состояния на фоне острых респираторных заболеваний, острые респираторно-вирусные инфекции, длительно текущие хронические инфекции и т.д. потребность в ней значительно возрастает.

Для проведения испытаний по оценке терапевтической эффективности кальцемагфосвита при послеродовом парезе у коров на молочно-товарной ферме (МТФ) «Валище-2» ОАО «Валище» после клинического обследования по принципу условных аналогов было сформировано три группы – одна контрольная (1-я) и две опытные (2-я и 3-я) по 5-6 животных в каждой. Указанная ферма благополучна по инфекционным и паразитарным заболеваниям крупного рогатого скота.

При постановке диагноза учитывали анамнестические данные, клинические симптомы и данные клинического обследования животных. Группы формировались постепенно по мере выявления коров с симптомами послеродового пареза. Болезнь диагностировали в первые 2–5 дней после родов. Она проявлялась общим угнетением или кратковременным возбуждени-

ем, отсутствием аппетита и жвачки. Коровы передвигались осторожно, неуверенно, часто отмечалась общая дрожь или подергивание мышц крупы и конечностей. В тяжелых случаях животные лежали с подогнутыми под себя конечностями, с запрокинутой в сторону головой и S-образным искривлением шеи. Зрачки расширены, глаза полужакрыты, пульс слабый, дыхание поверхностное с наличием хрипов, акт глотания нарушен. При определении экстроцептивной болевой чувствительности отмечали гипалгезию или аналгезию. Тактильная чувствительность характеризовалась гипестезией и анестезией. Температура тела понижалась до 35–36 °С, тело, особенно у основания рогов и конечностей, было холодным. Кроме того, отмечали слезотечение, подсыхание и помутнение роговицы. У отдельных животных болезнь сопровождалась слюнотечением и выпадение языка. Перистальтика, дефекация и мочеиспускание отсутствовали. В прямой кишке обнаруживали сухие, плотные каловые массы, мочевого пузыря был переполнен.

Коров 1-й группы лечили с использованием препарата «Раствор кальция борглюконата 20 %» производства ООО «НИТА-ФАРМ» (Россия). Препарат подогревали до температуры 35–37 °С и вводили однократно внутривенно (медленно, в течение 2–3 минут) из расчета 0,5 мл/кг массы тела.

Животным 2-й группы вместо 20%-ного раствора кальция борглюконата внутривенно медленно однократно в дозе 80–100 мл на животное вводили препарат «Кальфосет», содержащий в своем составе кальций, фосфор, магний производства «KRKA d.d.», Словения.

Коровам 3-й группы вместо 20%-ного раствора кальция борглюконата однократно внутривенно вводили испытуемый препарат «Кальцемагфосвит» из расчета 0,5 мл на кг массы тела на 40%-ном растворе глюкозы в соотношении 1–2:1.

Клиническое наблюдение за животными вели в течение 10 дней после введения препаратов. Эффективность терапии

оценивали по клиническому состоянию животных, срокам их выздоровления и сохранности.

Изучение лечебной эффективности кальцемагфосвита при послеродовом залеживании у коров проводили на МТФ «Тарасово» МРУП «Агрокомбинат “Ждановичи”» и МТФ «Малиновка» ОАО «Щомыслица» Минского района Минской области. Указанные фермы были благополучны по инфекционным и паразитарным заболеваниям.

На МТФ «Тарасово» после обследования животных по принципу условных аналогов было сформировано три группы: одна контрольная (1-я), которая насчитывала 10 коров, и две опытные (2-я и 3-я), которые включали 8 и 9 коров соответственно. При постановке диагноза учитывали анамнестические данные, клинические симптомы и данные клинического обследования животных.

В научно-производственный опыт включали новотельных коров чернопестрой породы, имевших ранее от 1 до 4 отелов. При клиническом обследовании выявляли, что новотельные животные самостоятельно не поднимались. Если их поднимали, они не могли стоять. Диагностировалась также слабость задних конечностей, но чувствительность и двигательная функция периферических нервов была сохранена.

Коровам 1-й группы после подогрева до температуры 35–37 °С вводили двукратно внутривенно (медленно, в течение 2–3 минут) препарат «Раствор кальция борглюконата 20 %» производства ООО «НИТА-ФАРМ» (Россия) в дозе 0,5 мл/кг массы тела.

Животным 2-й группы двукратно с интервалом 24 ч внутривенно инъекцировали препарат «Кальфосет» в разовой дозе 80–100 мл на животное.

Коровам 3-й группы трехкратно один раз в сутки с интервалом 24 ч внутривенно вводили кальцемагфосвит в разовой дозе 0,5 мл на кг массы тела. Испытуемый препарат смешивали с 40%-ным раствором глюкозы в соотношении 1–2:1.

Клиническое наблюдение за животными вели в течение 10 дней после последней обработки. Эффективность терапии оценивали по клиническому состоянию животных, срокам их выздоровления и сохранности.

На МТФ «Малиновка» ОАО «Щомыслица» Минского района Минской области после клинического обследования животных по принципу условных аналогов была сформирована одна контрольная (1-я, n=7) и две опытные группы (2-я, n=7; 3-я, n=7). Группы формировались постепенно, по мере выявления коров с послеродовым залеживанием.

Диагноз ставили с учетом анамнеза и данных клинического обследования животных. В качестве основных симптомов заболевания во всех случаях отмечали снижение аппетита, а также то, что животные после родов поднимались с трудом или вовсе не вставали.

Коровам контрольной группы вводили внутривенно (медленно, в течение 2–3 минут) препарат «Раствор кальция борглюконата 20 %» в дозе 0,5 мл/кг массы тела трехкратно с интервалом 24 ч. Животным 2-й группы вместо 20%-ного раствора кальция борглюконата вводили препарат «Кальцемагфосвит» трехкратно внутривенно в дозе 0,75 мл на кг живой массы с интервалом 24 ч. Коровам 3-й группы внутривенно трехкратно вводили кальцемагфосвит в дозе 1,0 мл на кг массы тела на 40%-ном растворе глюкозы в соотношении 1–2:1 с интервалом 24 ч.

Клиническое наблюдение за животными вели в течение 14 дней после последней обработки. Эффективность терапии оценивали по клиническому состоянию животных, срокам их выздоровления и сохранности.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Анализ результатов исследований на МТФ «Валище-2» ОАО «Валище» Пинского района Брестской области показал, что при внутривенном введении экспериментального образца комплексного препарата «Кальцемагфосвит» в дозе 0,5 мл на

килограмм массы тела лечебная эффективность при послеродовом парезе у коров составила 83,3 %. При применении препаратов «Кальфосет» и «Раствор кальция борглюконата 20 %» было вылечено 60 % и 80 % животных соответственно.

Результаты опытов на МТФ «Тарасово» МРУП «Агрокомбинат “Ждановичи”» Минского района Минской области показали, что лечебная эффективность внутривенного введения комплексного препарата «Кальцемагфосвит» в дозе 0,5 мл на килограмм массы тела при послеродовом залеживании у коров составила 88,9 %. Результаты исследований на МТФ «Малиновка» ОАО «Щомыслица» Минского района Минской области показали, что лечебная эффективность внутривенного введения комплексного препарата «Кальцемагфосвит» в дозе 0,75 мл на кг массы тела при послеродовом залеживании у коров составила 75 %, а при введении 1,0 мл – 87,5 %.

При проведении испытаний на фоне применения препарата «Кальцемагфосвит» осложнений и побочных действий выявлено не было.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Важным условием увеличения производства молока в агропромышленных предприятиях Республики Беларусь является рост численности поголовья коров и их здоровье. Однако повседневные аномальные воздействия на напряженно функционирующий организм животных приводят к массовому возникновению послеродовой патологии, которая часто сопровождается выбраковкой и сокращением сроков их хозяйственного использования.

Для обеспечения высоких показателей продуктивности и воспроизводства коровы должны получать рационы, сбалансированные не только по питательным, но и биологически активным веществам, включая биоэлементы, которые необходимы для построения химических структур живых тканей и осуществления биохимических и физиологических процессов, лежащих в основе жизнедеятельности организма.

К сожалению, на практике коровы часто получают корма с недостаточным и дефицитным содержанием макро- и микроэлементов. Более того, при стельности и в послеродовой период потребность животных в них резко возрастает. С учетом этого в условиях сельхозпредприятий широко распространена патология послеродового периода, в этиологии которой лежит дисбаланс биоэлементов.

Для обеспечения минерального гомеостаза в практической ветеринарии широко используются фармакологические препараты на основе биоэлементов. Их применение позволяет не только восстанавливать необходимый уровень макро- и микроэлементов, но и оказывать эффект при лечении и профилактике болезней родового и послеродового периодов.

Результаты научно-производственных опытов показали, что созданный нами комплексный препарат на основе солей кальция, магния и органического соединения фосфора «Кальцемагфосвит» является безопасным и может парентерально применяться для лечения коров при послеродовом залеживании и парезе.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Авцын, А. П. Недостаточность эссенциальных микроэлементов и ее проявление в патологии / А. П. Авцын // *Архив патологии*. – 1990. – Т. 52, № 3. – С. 3–8.
2. Валюшкин, К. Д. Влияние витаминно-минеральной подкормки на естественную резистентность стельных сухостойных коров и их воспроизводительную функцию / К. Д. Валюшкин, Е. А. Юшковский // *Известия национальной академии наук Беларуси. Серия аграрных наук*. – 2003. – № 2. – С. 66–69.
3. Георгиевский, В. И. Минеральное питание животных / В. И. Георгиевский, Б. Н. Анненков, В. Т. Самохин. – М. : Колос, 1979. – 471 с.
4. Горбачёв, В. В. Витамины, микро- и макроэлементы : справочник / В. В. Горбачёв, В. Н. Горбачёва. – Минск : Книжный дом; Интерпрессервис. – 2002. – 504 с.

5. Зайцев, С. Ю. Биохимия животных / С. Ю. Зайцев, Ю. В. Конопатов // *Фундаментальные и клинические аспекты* : учебник. – Изд. 2-е, испр. – СПб. : Лань, 2005. – 384 с.

6. Кальницкий, Б. Д. Особенности минерального питания высокопродуктивных молочных коров / Б. Д. Кальницкий, О. В. Харитонов, В. И. Калашиник // *Новое в кормлении высокопродуктивных животных* ; под ред. акад. ВАСХНИЛ А.П. Калашикова. – М. : Агрпромиздат, 1989. – С. 51–59.

7. Кучинский, М. П. Биоэлементы – фактор здоровья и продуктивности животных: монография / М. П. Кучинский. – Минск : Бизнесофсет, 2007. – 371 с.

8. Кучинский, М. П. Препараты на основе биоэлементов для терапии и профилактики болезней минеральной недостаточности сельскохозяйственных животных: дис. ... д-ра ветеринар. наук : 06.02.01 и 06.02.03 / М. П. Кучинский. – Минск, 2010. – 303 с.

9. Марусич, А. Г. Скотоводство. Воспроизводство стада : учеб.-метод. пособие / А. Г. Марусич. – Горки : БГСХА, 2017. – 64 с.

10. Мейер, Д. Ветеринарная лабораторная медицина. Интерпретация и диагностика / Д. Мейер, Дж. Харви ; пер. с англ. – М. : Софион, 2007. – 456 с.

11. Организация воспроизводства крупного рогатого скота : учеб.-метод. пособие / Р. Г. Кузьмич [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2010. – 44 с.

12. Ребров, В. Г. Витамины, макро- и микроэлементы / В. Г. Ребров, О. А. Громова. – М. : РЕОТАР-Медиа, 2008. – 960 с.

13. Самохин, В. Т. Профилактика нарушений обмена микроэлементов у животных / В. Т. Самохин. – М. : Колос, 1981. – 144 с.

14. Скальный, А. В. Биоэлементы в медицине / А. В. Скальный, И. А. Рудаков. – М. : Издательский дом «Оникс 21 век»; Мир, 2004. – 272 с.

15. Шабунин, С. В. Болезни органов размножения у животных как локальное проявление полиорганной патологии / С. В. Шабунин, А. Г. Нежданов // *Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных : материалы междунар. науч.-практ. конф.* – Воронеж : Истоки, 2009. – С. 6–9.



▶ для стимуляции и нормализации половой функции

▶ при патологических состояниях, сопровождающихся снижением иммунореактивности организма и нарушением обмена веществ

## ПРЕПАРАТ ВЕТЕРИНАРНЫЙ МИКРОВИТ SA

ПРИМЕНЯЕТСЯ  
КРУПНОМУ  
РОГАТОМУ  
СКОТУ И  
СВИНЬЯМ



[WWW.BIEVM.BY](http://WWW.BIEVM.BY)

▶ для профилактики эмбриональной смертности, гипоксии плода, послеродовых осложнений, сокращения сервис-периода, восстановления процесса овуляции у коров, повышения резистентности организма

Надаринская М.А., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент<sup>1</sup>

Голушко О.Г., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент<sup>1</sup>

Козинец А.И., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент<sup>1</sup>

Кучинский М.П., доктор ветеринарных наук, профессор<sup>2</sup>

<sup>1</sup>РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Жодино

<sup>2</sup>РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», г. Минск

## ВТОРИЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ПЕРЕРАБОТКИ ПРОИЗВОДСТВА МАСЛА В КОРМЛЕНИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

### Резюме

Целью работы было изучить эффективность включения вторичных продуктов получения масла из семян рапса в рационы молодняка крупного рогатого скота. Исследования проводились в РДУП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области в течение трех месяцев. Изучены качественный и энергетический состав и характеристика нового кормового источника как сырья после сепарации маслосемян рапса. Исследована эффективность обогащения комбикормов рапсовым soapтоком и скармливания его в составе комбикормов для молодняка крупного рогатого скота в количестве 0,5 и 1,0 %. Установлено, что при введении жирной отбеленной глины в состав комбикормов в количестве 0,5 и 1,0 % и обогащении их сырым жиром с вводом фосфатидно-масляной эмульсии в состав концентратов в дозах 1,0, 2,0 и 3,0 % среднесуточные приросты повысились, а затраты кормов на 1 кг прироста, соответственно, снизились.

**Ключевые слова:** сырье после сепарации, soapсток, жирная отбеленная глина, фосфатидно-масляная эмульсия, сырой жир, молодняк крупного рогатого скота, продуктивность.

### Summary

The aim of the work was to study the effectiveness of the inclusion of secondary products of oil production from rapeseed in the diets of young cattle. The research was carried out in the RDUE ZhodinoAgroPlemElita"of the Smolevichi district of the Minsk region for three months. The qualitative and energetic composition and characteristics of a new fodder source, as a raw material after the separation of oilseeds of rape, have been studied. The efficiency of enrichment of mixed fodders with rapeseed soap stock and feeding it in the composition of mixed fodders for young cattle in the amount of 0.5 and 1.0% has been investigated. It was found that with the introduction of oily bleaching clay into the composition of mixed fodders in an amount of 0.5 and 1.0% and their enrichment with crude fat with the introduction of a phosphatide-oil emulsion into the concentrate composition at doses of 1.0%, 2.0 and 3, 0% average daily gains increased, and feed costs per 1 kg of gain decreased accordingly.

**Keywords:** raw materials after separation, soap stock, fat bleaching clay, phosphatide-oil emulsion, crude fat, young cattle, productivity.

Поступила в редакцию 16.11.2021 г.

### ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе экономического развития в условиях перевода на самообеспечение животноводства республики всеми кормами возросла необходимость рационального использования производственного и ресурсного потенциала. Одним из направлений решения этой проблемы является максимальное использование в качестве кормовых добавок вторичных ресурсов переработки семян рапса.

Основу сырьевой базы производства комбикормов для всех видов и половозрастных групп животных должны составлять злаковый зернофураж, зернобобовые, рапс и продукты его переработки (жмых и шрот). Для сокращения доли зернофуража и его обогащения в составе комбикормов необходимо использовать и другие обезвоженные вторичные ресурсы: фуз рапсовый кормовой, soapсток, жирную отбеленную глину, фосфатидно-масляную эмульсию и

вторичное сырье после сепарации маслосемян рапса [1–9].

Соапсток рапсовый кормовой – побочный продукт, образующийся в процессе щелочной нейтрализации рапсового масла и представляющий собой водный раствор натриевых солей жирных кислот, триглицеридов (нейтральный жир) и фосфатидов [3, 8]. Массовая доля жира – не менее 25 %, жирных кислот – 10 % [10]. Технологии внедрения соапстока в кормовые рационы различны: ввод 500 г на 100 кг живой массы путем полива непосредственно самих кормов с распределением примерно на три кормления; разбавление с горячей водой и смешивание с комбикормом с 4-часовой выдержкой и скармливанием на одну корову до 500 г; введение в состав гранул, приготовленных на основе соломы, половы и других малосъедобных кормов, что способствовало некоторой экономии концентратов [5, 7, 11].

Сырье кормовое после сепарирования семян рапса получают в результате сортировки семян после процесса сушки на сите с отверстиями 5 и 3 мм перед прессованием. Массовая доля жира в кормовом сырье составляет не менее 8 %, протеина – не менее 9 %, сырой клетчатки – не более 30 % при содержании влаги не более 12 % [12].

Фосфатидно-масляная эмульсия, отход переработки рапсового масла после гидратации, представляет собой маслянистую грязеподобную массу с высокой общей питательностью. Массовая доля жира – до 30,0 %, фосфатидов – 50 % [2, 13]. В состав кормовой эмульсии входит до 40,7 % линолевой кислоты, 5,4 % линоленовой, 24,7 % олеиновой и до 10 % лецитина в составе жира [14].

Использование фосфатидного концентрата, сходного отхода после переработки, в кормлении телят практиковалось в составе заменителей молока в количестве 5–10 % [15], включение в комбикорма и рационы молодняка крупного рогатого скота варьировало от 70–120 г на голову в сутки [3, 16, 17].

Жирная отбельная глина, продукт очистки масла от пигментов, примесей и

вредных компонентов, представляет собой тягучую пастообразную массу. Активированные отбельные глины, бентониты и другие сорбенты используются для осветления и очистки масла. Они отличаются способностью отбеливать масла и удерживать их от собственной массы [18, 19]. Жирная отбельная глина содержит в своем составе от 20 до 50 % остаточных масел и жиров, в которые входят токоферолы, стиролы, свободные жирные кислоты, хлорофиллы, каротиноиды [2, 20]. В состав рациона свиней и птицы жирные отбельные глины вводили в количестве, не превышающем 3 % [3, 6].

Основой растительных масел, как и всех жиров, являются полные сложные эфиры глицерина и высших алифатических кислот. В составе сложного эфира одна молекула глицерина связана с остатками трех жирных кислот, поэтому эти соединения называют триацилглицеринами. Массовая доля триацилглицеринов в жирах составляет 93–98 %.

Кислоты, входящие в состав триацилглицеринов, представляют собой одноосновные карбоновые кислоты, являющиеся производными предельных или непредельных углеводов, в которых один атом водорода у первого углеродного атома замещен на карбоксильную группу [21].

Коротко- и среднецепочечные жирные кислоты всасываются напрямую в кровь через капилляры кишечного тракта и проходят через воротную вену, как и другие питательные вещества. Длинноцепочечные (с количеством атомов углерода от 16 и выше) проникнуть напрямую через маленькие капилляры кишечника не могут. Вместо этого они поглощаются жирными стенками ворсинок кишечника и заново синтезируются в триглицериды, которые покрываются холестерином и белками с образованием хиломикрона. Внутри ворсинки хиломикрон попадает в так называемый млечный капилляр, где поглощается большими лимфатическими сосудами. Он транспортируется по лимфатической системе вплоть до места, близкого к сердцу, где кровеносные артерии и вены наиболь-

шие. Грудной проток освобождает хиломикрон в центральный венозный кровоток. Таким образом, триглицериды транспортируются в места, где в них нуждаются [22, 23].

Роль полиненасыщенных жирных кислот многообразна. В нормальных физиологических процессах они принимают участие в регуляции давления в сосудистом русле, полости суставов и регуляции уровня иммунного ответа; регуляции основных секреторных процессов в организме и контроле за вязкостью секретируемых жидкостей; регуляции тонуса сосудистой стенки; регуляции коллатерального кровообращения; регуляции тонуса гладкой мускулатуры и вегетативной нервной системы; эластичности и текучести клеточных мембран; регуляции транспортных потоков между клеткой и внеклеточной жидкостью; регуляции транспорта кислорода из эритроцита в периферические ткани; обеспечении подвижности насыщенных жиров в кровяном русле; снижении агрегатной (склеивающей) способности тромбоцитов и вязкости крови; обеспечении защиты тканей от действия воспалительных медиаторов; регуляции нервной и синоптической передач [24].

Активная роль эссенциальных жирных кислот обусловлена их участием в метаболизме эйкозаноидов (простагландинов и лейкотриенов) – важных медиаторов воспаления, а при атопических заболеваниях имеет место активация циклооксигеназных и липооксигеназных путей превращения арахидоновой кислоты, гиперпродукция липидных медиаторов. Изменяя тип поступающих с кормом и накопленных в клеточных мембранах липидов, можно управлять обменом простагландинов [25, 26].

Именно баланс полиненасыщенных жирных кислот является ключевым механизмом на пути метаболизма эйкозаноидов. Число двойных связей в жирной кислоте определяет классификацию или тип простагландина. При различных заболеваниях необходимо увеличить процент противовоспалительных эйкозаноидов [27].

**Целью наших исследований** явилось изучение эффективности включения

вторичных продуктов получения масла из семян рапса (сырье после сепарации, соапсток, жирная отбельная глина, фосфатидно-масляная эмульсия) в составе рационов молодняка крупного рогатого скота.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для изучения эффективности скармливания продуктов переработки маслосемян рапса в рационах молодняка крупного рогатого скота в РДУП «Жодино-АгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области проведены научно-хозяйственные опыты.

С целью проведения опыта по скармливанию сырья после сепарации (СПС) по принципу пар-аналогов с учетом возраста и живой массы были сформированы 4 группы телят средней живой массой 170 кг в возрасте 7 месяцев по 15 голов в каждой. Животным опытных групп в составе комбикорма скармливали 2, 4 и 6 % вторичного продукта переработки. Исследования длились 70 дней, 4 дня – предварительный период.

Исследования по изучению эффективности рапсового соапстока проводились на 3 группах молодняка крупного рогатого скота средней живой массой 110 кг в возрасте 4–5 месяцев по 15 голов в каждой. Разница в кормлении заключалась в том, что добавку соапстока скармливали в составе комбикорма в количестве 0,5 % по массе во II опытной группе, в количестве 1,0 % по массе – в III опытной группе. Телята контрольной группы получали комбикорм без использования кормовой добавки. Продолжительность предварительного периода составила 4 дня, учетного – 90 дней.

Для проведения опыта по изучению ввода разных уровней жирной отбельной глины (ЖОГ) по принципу пар-аналогов были сформированы 3 группы телят средней живой массой 110 кг в возрасте 4–5 месяцев по 10 голов. Кормовую добавку скармливали в составе комбикорма в количестве 0,5 % по массе во II опытной группе, в количестве 1,0 % по массе – в III опытной группе. Добавку вводили путем

приготовления предсмеси 1:1. Телята контрольной группы получали комбикорм без ввода соапстока. Продолжительность предварительного периода составила 4 дня, учетного – 90 дней.

Для проведения опыта по изучению ввода в комбикорм разного уровня фосфатидно-масляной эмульсии (ФМЭ) по принципу пар-аналогов с учетом возраста и живой массы были сформированы 4 группы телят средней живой массой 170 кг в возрасте 7 месяцев по 15 голов в каждой. Кормовую добавку скармливали в составе комбикорма в количестве 1,0 % по массе во II опытной группе, в количестве 2,0 % по массе – в III опытной группе и 3,0 % – в IV опытной группе. Телята контрольной группы получали комбикорм без использования кормовой добавки. Продолжительность предварительного периода составила 4 дня, учетного – 84 дня.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведена химическая и физическая оценка нового кормового источника – сырья после сепарации маслосемян рапса с содержанием 10,7 МДж обменной энергии, 927 г сухого вещества, 163,1 г сырого протеина, 206,9 г сырого жира, 156,4 г сырой клетчатки, 6,8–10,1 г кальция, 4,0–6,2 г фосфора.

Питательный состав смеси, состоящей из рапсового жмыха и СПС маслосемян рапса, был рассчитан на основе процентного соотношения компонентов в комбикорме. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что внесение сырья после сепарации маслосемян рапса в состав рапсового жмыха снижало уровень сырого

протеина с увеличением процента ввода на 7,4 % при вводе 2 % сырья, на 14,8 % – 3 % сырья и на 22,7 % – 4 % сырья. Уровень обменной энергии смеси составил в кг 11,3–10,98 МДж, сырого протеина – 322–254 г, из которого нерастворимого протеина – 63–60 г в опытных группах при 64 г в контрольной. Уровень нерастворимого протеина составил 241, 218 и 194 г при 258 г в контроле. Отмечено снижение как растворимого, так и нерастворимого протеина с увеличением дозировки сырья.

В среднем за опыт, который пришелся на переходный период, животные потребили зеленую массу кукурузы с початками в количестве 6,0–6,2 кг, сенаж разнотравный – 3,7–4,0 кг и комбикорм – 1,4 кг. Отмечено, что с поступлением в рацион комбикорма с заменой рапсового жмыха на СПС наблюдалось некоторое ухудшение поедаемости кормов рациона. Обеспеченность энергией на 1 кг сухого вещества рациона составила 10,3–10,0 МДж, сырого протеина – 110 г, переваримого протеина – 70 г. В рационе присутствует недостаток сырого жира. Соотношение кальция к фосфору находилось в пределах 1,5.

При введении повышенных доз СПС маслосемян рапса в состав комбикорма для молодняка крупного рогатого скота установлено ингибирующее влияние на продуктивность животных (таблица 1). За период исследований при замене 2 % рапсового жмыха на продукт после сепарации маслосемян рапса валовой прирост был ниже, чем в контроле, на 4 кг, при замене 4 % – на 5,1 кг и при замене 6 % – на 4,7 кг.

Таблица 1. – Показатели продуктивности молодняка крупного рогатого скота при скармливании СПС

Показатели	Группа			
	I	II	III	IV
Живая масса на начало опыта, кг	135,4±2,54	133,9±3,47	131,3±2,58	133,1±2,32
Живая масса в конце опыта, кг	192,3±7,33	186,8±8,38	183,1±3,92	185,3±5,0
Валовой прирост, кг	56,9±3,23	52,9±1,8	51,8±3,36	52,2±3,77
Среднесуточный прирост, г	813±43,04	756±46,03	740±47,9	746±53,8
% к контролю	–	93,0	91,1	91,8
Затраты кормов на 1 кг прироста, корм. ед.	7,29	7,74	7,76	7,79

Среднесуточный прирост животных в сравнении с контрольным результатом был ниже на 7,0 % во II группе, на 9,0 % – в III группе и на 8,2 % – в IV группе.

Рапсовый соапсток в своем составе при 437 г сухого вещества имел 10,79 МДж энергии, 362,9 г сырого жира, 1,4 г кальция и 3,7 г фосфора. В состав комбикорма для подопытного молодняка крупного рогатого скота с включением соапстока входили зерновая группа (пшеница и ячмень – по 34 %), пелюшка и кукуруза – по 5 %, белковые компоненты (жмых рапсовый – 14 %, шрот подсолнечный – 2,8 %), минеральные компоненты (мел кормовой – 0,5 %, соль поваренная – 0,35 %, премикс – 1 %). Рапсовый соапсток вносили в количестве 0,5 и 1,0 % в расчете по массе. Использование соапстока в составе комбикорма позволило повысить содержание сырого жира до 4,3 %, обеспеченность обменной энергией составила 10,6–10,7 МДж.

Рацион животных состоял из 2,0–2,8 кг сенажа разнотравного, 3,5–4,7 кг силоса кукурузного, 2,6 кг комбикорма. В расчете на 1 кормовую единицу приходилось в среднем по группам 90,77 г перева-

римого протеина. Поступление с кормами сухого вещества находилось в пределах 4,5 кг, в 1 кг которого содержалось в среднем 1,27 кормовых единиц, 132,0 г сырой клетчатки и 11,78 МДж обменной энергии. Соотношение кальция к фосфору в рационе телят контрольной группы составляло 1,84, опытной – 1,89.

Потребление сырого жира при скармливании соапстока во II группе увеличилось на 16,6 %, в III опытной группе – на 24,4 % относительно сверстников из контрольной группы, что практически приблизилось к нижней границе нормы. Потребление сырого жира опытными животными за счет комбикорма составило во II группе 121,7 г (60,3 % от общей обеспеченности), в III группе – 125,1 г, или 58,2 % от суммарно поступившего с рационом, тогда как в контроле за счет комбикорма поступало 107,6 г сырого жира, что составило 62,2 % от общей обеспеченности.

По интенсивности роста молодняк крупного рогатого скота, которому скармливали рапсовый соапсток в составе комбикорма, превзошел животных контрольной группы (таблица 2).

Таблица 2. – Показатели продуктивности молодняка крупного рогатого скота при скармливании рапсового соапстока

Показатели	Группа		
	I	II	III
Живая масса при постановке на опыт, кг	109,1±3,17	104,1±1,56	111,1±1,57
Конечная живая масса, кг	186,1±6,19	188,0±3,64	197,4±7,46
Валовой прирост за период исследований, кг	77,0±1,82	83,9±2,77	86,32±4,16
Среднесуточный прирост за опыт, г	875±59,0	953±39,6	981±69,3
% к контролю	–	108,9	112,1
Затраты кормов на 1 кг прироста, корм. ед.	6,21	6,04	6,11

По окончании ввода в рацион рапсового соапстока было установлено, что телята, получавшие его с комбикормом в количестве 0,5 % по массе, по валовому приросту за период исследований (88 кормодней) превзошли показатели контрольной группы на 6,9 кг (9,0 % к контролю). Поступление с комбикормом рапсового соапстока в количестве 1,0 % по массе обеспечило повышение валового прироста на 9,32 кг, или на 12,1 % относительно контрольных телят.

Среднесуточный прирост у животных опытных групп был выше показателей контрольной группы на 78 г, или на 8,3 %, тогда как увеличение дозировки введения рапсового соапстока обеспечило разницу, равную 106 г, или 12,1 %. Затраты на килограмм прироста снизились при скармливании опытного комбикорма на 2,7 % во II группе и на 1,6 % – в III группе.

В 1 кг ЖОГ содержалось 9,63 МДж обменной энергии, 325,9 г сырого жира,

9,8 г кальция и 1,0 г фосфора. Состав комбикорма для подопытного молодняка крупного рогатого скота с включением ЖОГ входили компоненты, аналогичные предыдущему опыту. Обеспеченность энергией комбикорма была на уровне 10,7–10,6 МДж, сырым протеином – 171–170 г.

С ежедневным рационом животные получали 2,0–2,4 кг сенажа, 3,5–4,1 кг силоса кукурузного, 2,6 кг комбикорма. В расчете на 1 кормовую единицу приходилось в среднем по группам 90,27 г переваримого протеина. Поступление с кормами сухого вещества находилось в пределах 4,5 кг, в 1 кг которого содержалось в среднем 1,2 кормовых единиц, 132,6 г сырой клетчатки и 11,19 МДж обменной энергии. Обеспеченность подопытных животных минеральными веществами и витаминами в целом отвечала требованиям детализированных норм. Соотношение кальция к фосфору было равным 1,05.

Потребление сырого жира опытными животными при скармливании ЖОГ в

составе комбикорма в количестве 0,5 % по массе увеличилось, благодаря чему обеспеченность сырым жиром была больше, чем у контрольных животных, на 9,0 %. С потреблением в ежедневном рационе комбикорма в III опытной группе обеспеченность сырым жиром повысилась на 14,6 % относительно контрольной группы. Потребление сырого жира животными опытными групп за счет комбикорма составило во II группе 121,7 г (60,3 % от общей обеспеченности), в III группе – 125,1 г, или 58,2 % от суммарно поступившего с рационом, тогда как в контроле за счет комбикорма поступало 107,6 г сырого жира, что составило 62,2 % от общей обеспеченности. Данная разница свидетельствует о том, что включение соапстока в предлагаемых дозировках в состав комбикорма повысило потребление кормов рациона и, следовательно, сырого жира.

По интенсивности роста опытный молодняк КРС превзошел животных контрольной группы (таблица 3).

Таблица 3. – Показатели продуктивности молодняка крупного рогатого скота с вводом ЖОГ

Показатели	Группа		
	I	II	III
Живая масса при постановке на опыт, кг	113,9±2,80	110,93±2,09	111,7±1,95
Конечная живая масса, кг	199,8±5,23	205,63±7,59	206,3±2,29
Валовой прирост за период исследований, кг	85,9±1,82	94,7±2,77	93,6±4,16
Среднесуточный прирост за опыт, г	954±59,0	1052±39,6	1040±69,3
% к контролю	–	110,3	109,0
Затраты кормов на 1 кг прироста, корм. ед.	5,28	5,00	5,14

По окончании ввода в рацион ЖОГ было установлено, что телята, получавшие комбикорм с 0,5 % по массе, по валовому приросту за период исследований (90 кормодней) превзошли животных контрольной группы на 8,8 кг, что составило 10,2 %. Поступление с комбикормом ЖОГ в количестве 1,0 % по массе обеспечило повышение валового прироста на 7,7 кг, или 9,0 %.

Среднесуточный прирост за период скармливания добавки у опытных животных был выше показателей контрольной группы на 98 г, или на 10,3 %, тогда как увеличение дозировки введения ЖОГ обеспечило разницу, равную 86 г, или 9,0 %.

Было установлено, что в 1 кг ФМЭ содержалось 9,85 МДж обменной энергии при 355 г сухого вещества с уровнем жира 333,3 г, кальция – 0,9 и фосфора – 5,1 г. В состав комбикорма для подопытного молодняка крупного рогатого скота вводилась ФМЭ в количестве 1,0, 2,0 и 3,0 % в расчете на тонну комбикорма. Обеспеченность комбикормов энергией составила 10,8–10,0 МДж, сырым жиром в опытных группах – 37–41,1 г и 34 г – в контроле при уровне сырого протеина 160–157 г.

Исследование показателей безопасности испытуемого комбикорма после месяца хранения с максимальным вводом

ФМЭ свидетельствует, что общее микробное число составило в обычном комбикорме 566667 КОЕ/г и 59000 КОЕ/г – в комбикорме с включением 3,0 % ФМЭ. Грибов и плесеней в комбикорме как с включением ФМЭ, так и без нее в составе концентратов через месяц хранения не обнаружено.

В рационе подопытных животных содержалось 3,4–3,7 кг сенажа разнотравного, 3,6–3,8 кг силоса кукурузного, 2,0 кг комбикорма. В расчете на 1 кормовую единицу при зимне-стойловом рационе приходилось 0,9 кг сухого вещества, уровень потребления которого составил 4,6–4,8 кг и соответствовал нормам потребления для молодняка крупного рогатого скота согласно получаемому привесу. На 1 кг сухого вещества приходилось 122,9–124,4 г сырого протеина, 90,3–88,4 г переваримого, 30,7–31,0 г сырого жира. Соотношение кальция к фосфору в рационе телят контрольной группы составило 1,9.

При зимне-стойловом рационе потребление сырого жира опытными животными увеличилось на 7,2 % с поеданием в составе комбикорма 1,0 % ФМЭ, на 12,7 % – 2,0 % ФМЭ в составе комбикорма и на 23,0 % – при вводе комбикорма с 3,0 % ФМЭ.

При смене рациона на летний в среднем по группам в расчете на 1 кормовую единицу приходилось 81,31 г переваримого протеина. Поступление с кормами сухого вещества находилось в пределах 6,5– 6,6 кг, в 1 кг которого содержалось 181,7 г сырой клетчатки и 10,5 МДж обменной энергии. Обеспеченность подопытных животных минеральными веще-

ствами и витаминами в целом отвечала требованиям детализированных норм. Соотношение кальция к фосфору в рационе телят контрольной группы было равным 2,3.

Потребление сырого жира опытными животными при скармливании ФМЭ в составе комбикорма в количестве 1,0 % по массе увеличилось, благодаря чему обеспеченность сырым жиром была выше, чем у контрольных животных, на 4,8 %. С потреблением в ежедневном рационе комбикорма в III опытной группе обеспеченность сырым жиром у животных повысилась на 10,8 % относительно сверстников из контрольной группы, что практически приблизилось к нижней границе нормы. Включение в комбикорм 3,0 % ФМЭ повысило потребление животными сырого жира на 20,5 %.

По интенсивности роста молодняка крупного рогатого скота, которому скармливали рапсовую ФМЭ в составе комбикорма, превзошел показатели контрольной группы (таблица 4).

По окончании ввода в рацион ФМЭ было установлено, что телята, получавшие ее с комбикормом в количестве 1,0 % по массе, по валовому приросту превзошли животных контрольной группы на 6,59 кг, что составило 10,0 %. Поступление с комбикормом ФМЭ в количестве 2,0 % по массе обеспечило повышение валового прироста на 4,40 кг, или на 6,7 % относительно контрольных телят. Включение в концентраты 3,0 % ФМЭ способствовало повышению привеса на 4,06 кг, или 6,2 % относительно контрольных животных.

Таблица 4. – Показатели среднесуточного прироста молодняка крупного рогатого скота с вводом ФМЭ

Показатели	Группа			
	I	II	III	IV
Живая масса на начало опыта, кг	170,24±2,19	169,54±2,04	171,86±3,06	172,40±1,63
Конечная живая масса, кг	235,88±4,88	241,77±2,04	241,90±5,05	242,10±5,33
Валовой прирост, кг	65,64±2,15	72,23±1,68	70,04±1,28	69,70±2,27
Среднесуточный прирост, г	781±26,86	860±22,3	834±27,3	830±22,5
% к контролю	–	110,1	106,8	106,3
Затраты кормов на 1 кг прироста, корм. ед.	7,42	6,98	7,03	7,10

Среднесуточный прирост за период скармливания добавки у опытных животных был выше показателей контрольной группы на 79 г, или на 10,1 %, тогда как увеличение дозировки введения фосфатидной эмульсии до 2,0 % обеспечило разницу 53 г, или 6,8 %, а с учетом повышения ввода эмульсии до 3,0% увеличение составило 49 г, или 6,3 %.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Изучены питательность и эффективность обогащения концентратов и комбикормов путем включения вторичных продуктов маслоэкстракционной промышленности молодняку крупного рогатого скота, а также влияние их скармливания на продуктивность.

2. Изучен питательный состав нового кормового источника – сырья после сепарации маслосемян рапса – и влияние повышенных дозировок его ввода в количестве 2,0 4,0 и 6,0 % в состав комбикормов для молодняку крупного рогатого скота . После трехмесячного скармливания испы-

туемых высоких дозировок были отмечены снижение продуктивности на 7,0, 9,0 и 8,2 % и увеличение затрат кормов на единицу продукции.

3. Определен питательный состав фосфатидно-масляной эмульсии и комбикормов с ее включением. Установлено, что с вводом 1,0, 2,0 и 3,0 % эмульсии наблюдалось повышение продуктивности на 10,1, 6,8 и 6,3 % и снижение затрат кормов.

4. Проанализирован общий питательный состав жирной отбеленной глины и комбикормов с ее включением, использование которых с добавлением ее в количестве 0,5 и 1,0 % способствовало повышению продуктивности на 10,3 и 9,0 % и снижению затрат кормов на 5,3 и 2,7 %.

5. Представлен анализ питательных веществ рапсового соапстока и комбикормов с его включением. Скармливание его в составе концентратов для молодняку крупного рогатого скота в количестве 0,5 и 1,0 % обеспечило увеличение среднесуточного прироста на 8,9 и 12,1 % и снижение затрат кормов на 2,7 и 1,6 %.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев, М. Эффективность включения фосфатидного осадка в рацион свиней на промышленном откорме / М. Васильев // *Животноводни науки*. – 1985. – Т. 22, № 11. – С. 48–43.
2. Герасименко, Е. О. Пищевые растительные фосфолипиды, получение и тенденция применения / Е. О. Герасименко, Е. А. Бутина, Е. П. Корнена // *Масложировая промышленность*. – 1999. – № 2. – С. 25–26.
3. Григорьева, В. Использование отходов масложировой промышленности / В. Григорьева, В. Мичигин // *АПК информ* [Электронный ресурс]. – 2000–2021. – Режим доступа: <http://www/apk-inform.com/ru/oilprocessing/59081>.
4. Гусейнов, З. Г. Фуза как обогатитель жира и фосфора в рационах молодняку крупного рогатого скота / З. Г. Гусейнов // *Материалы II Республиканской науч.-практ. конф. молодых ученых*. – Баку, 1983. – С. 20–21.
5. Девин, К. Соапсток / К. Девин, М. Девин // *Сельское хозяйство Нечерноземья*. – 1982. – № 11. – С. 32.
6. Получение и тенденции применения растительных фосфолипидов / С. А. Ерешко [и др.] // *Известия вузов. Пищевая технология*. – 2000. – № 2-3. – С. 34–36.
7. Технология производства кормовых добавок на основе фосфолипидов и их влияние на переваримость и продуктивное действие комбикормов / Н.И. Кузнецов [и др.] // *Вестник Воронежского аграрного университета*. – 1998. – № 1. – С. 162–167.
8. Кочеткова, А. А. Фосфолипиды в технологии продуктов питания / А. А. Кочеткова, А. П. Нечаев, В. Н. Красильников // *Масложировая промышленность*. – 1999. – № 2. – С. 10–13.
9. Кулибина, А. А. Использование отстойных фузов при доращивании бычков / А. А. Кулибина, С. В. Сухарев // *Вопросы кормления и разведения крупного рогатого скота в условиях индустриальной технологии в Ивановской области*. – М., 1984. – С. 24–29.
10. Соапсток кормовой «Агропродукт» : ТУ ВУ 691432298.009-2014.

11. Beal, R. E. Treatment of Soyben Oil Soapstock to Reduc Polution / R. E. Beal, V. E. Sohns, H. Mengt // *Journal of the American Oil Chemists' Society*. – 1972. – Vol. 49. – P. 447–450.

12. Сырье кормовое после фракционирования семян рапса : ТУ ВУ 691432298.005-2014.

13. Привало, О. Е. Энергетическая и биологическая ценность комбикормов в рационах, включающих кормовые фосфатиды / О. Е. Привало, А. А. Москалев, Н. Винникова // *Современные проблемы ветеринарной диетологии и нутрициологии : материалы II Междунар. симп., г. Санкт-Петербург, 22–24 апреля 2003 г.* – СПб., 2003. – С. 180–181.

14. Вторичные продукты маслоэкстракционной промышленности в кормлении сельскохозяйственных животных: рекомендации по использованию в рационах сельскохозяйственных животных фосфатидно-масляной эмульсии, соапстока, жирной отбеленной глины и сырья после сепарации маслосемян рапса / В. М. Голушко ; РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». – Жодино, 2020. – 20 с.

15. Алиев, А. А. Липидный обмен и продуктивность жвачных животных / А. А. Алиев. – М. : Колос, 1980. – 381 с.

16. Смекало, Н. А. Справочник по кормовым добавкам / Н. А. Смекало, Т. А. Захарова ; под ред. К. М. Солнцева. – Минск : Ураждай, 1990. – 398 с.

17. Мачигин, В. С. Использование отходов масложировой промышленности / В. С. Мачигин, В. Н. Григорьева, А. Н. Лисицын // *Масложировая промышленность*. – 2012. – № 2. – С. 27.

18. Щербаков, В. Г. Технология получения растительных масел / В. Г. Щербаков. – М. : Колос, 1992. – 206 с.

19. Технология переработки жиров : учебник / Б. Н. Тютюнников [и др.]. – Изд. 3-е, перераб. и доп. – М. : Пищепромиздат, 1963. – 595 с.

20. Rys, R. Mozliwe Zastosowania parafinacyjnych kwasow tluszczowych w zywienu zwierzat / R. Rys // *Now. Rolnicwo*. – 1974. – № 4. – S. 23–25.

21. О'Брайен, Р. Жиры и масла: производство, состав и свойства, применение / Р. О'Брайен. – СПб. : Профессия, 2007. – 756 с.

22. Competition between food particles and rumen bacteria in the uptake of long-chain fatty acids and triglycerides / G. G. Harfoot [et al.] // *Journal of Applied Bacteriology*. – 1974. – Vol. 37. – P. 633–641.

23. Блинов, В. И. Влияние энергетических добавок на межтоточный обмен липидов, отложение азота и прирост живой массы у бычков на откорме / В. И. Блинов, В. М. Дудина, А. А. Алиев // *Сб. науч. тр. / ВНИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных*. – Боровск, 1986. – Т. 33. – С. 47–55.

24. Harfoot, C. G. Lipid metabolism in the rumen // *Lipid Metabolism in Ruminant Animals* / C. G. Harfoot. – New York : Pergamol Press, 1981. – P. 21–55.

25. Кэмп, П. Введение в биологию / П. Кэмп. – М. : Мир, 1988. – 671 с.

26. Martin, S. A. Factors affecting conjugated linoleic acid and trans-C18:1 fatty acid production by mixed ruminal bacteria / S. A. Martin, T. C. Jenkins // *J. Anim. Sci.* – 2002. – Vol. 80. – P. 3347–3352.

27. Kepler, C. R. Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. III. Purification and properties of a linoleate  $\Delta^{12}$ -cis,  $\Delta^{11}$ -trans isomerase from *Butyrivibrio fibrisolvens* / C. R. Kepler, S. B. Tove // *J. Biol. Chem.* – 1967. – Vol. 242. – P. 5686–5692.



## ПРЕПАРАТ ВЕТЕРИНАРНЫЙ

# ВИРОКОЦИД

ПРИМЕНЯЮТ С ВОДОЙ ИЛИ КОРМОМ

ТЕЛЯТАМ, ЯГНЯТАМ, КОЗЛЯТАМ

► для профилактики и лечения ассоциативных болезней, вызванных эймериями, стронгилятами желудочно-кишечного тракта, трихоцефалами, стронгилоидами

► для стимуляции иммунных процессов при вторичных иммунодефицитах молодняка, вызванных ассоциативными паразитозами

Дубина И.Н., кандидат ветеринарных наук, доцент

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

## ИЗУЧЕНИЕ МОРФОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ (ЦИТОМОРФОЛОГИИ) ЯИЦ ГЕЛЬМИНТОВ ПЛОТОЯДНЫХ ЦЕЛЮ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЗИНВАЗИИ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

### Резюме

Санитарно значимые виды гельминтов домашних плотоядных обладают сложной морфобиохимической структурой, не позволяющей большинству химических соединений проникать внутрь яйца. Установлено полное отсутствие дезинвазионных свойств в отношении яиц *Toxocara canis* и *Taenia* spp. препаратов, относящихся к группе окислителей (перекись водорода и перманганат калия 1–30 %), щелочей (гидроокись натрия 1–3 %). Отсутствием овоцидных свойств в отношении яиц токсокар и тениид характеризуется и гипохлорит натрия, полученный электрохимическим способом, с концентрацией активного хлора менее 7 мг/л. Снижение влажности среды за счет санитарных средств на минеральной основе до 40,0 % приводит к прекращению развития яиц токсокар и 100%-ной их гибели в течение 7 дней. При влажности почвы ниже 8,0 % спустя 48 часов отмечалось развитие необратимых изменений морфологической структуры у 100 % яиц.

**Ключевые слова:** гельминты, яйца, морфология, внешняя среда, дезинвазия, *Toxocara canis*, *Taenia* spp.

### Summary

Sanitary significant types of helminths of domestic carnivores have a complex morphobiochemical structure that does not allow most chemical compounds to penetrate into the egg. The complete absence of disinfection properties was established with respect to eggs of *Toxocara canis* and *Taenia* spp. preparations belonging to the group of oxidants (hydrogen peroxide and potassium permanganate 1–30 %), alkalis (sodium hydroxide 1–3 %). The absence of ovocidal properties in relation to toxocar eggs is also characterized by sodium hypochlorite obtained by the electrochemical method, with an active chlorine concentration of less than 7 mg/l. A decrease in the humidity of the environment due to sanitary products on a mineral basis to 40.0 % led to the cessation of the development of toxocara eggs and their 100% death within 7 days. With soil moisture below 8.0 %, after 48 hours, the development of irreversible changes in the morphological structure of 100 % of the eggs was noted.

**Keywords:** helminths, eggs, morphology, external environment, disinfestation, *Toxocara canis*, *Taenia* spp.

Поступила в редакцию 30.11.2021 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Проведенные нами исследования по оценке санитарно-гельминтологического состояния окружающей среды на территории Республики Беларусь позволили идентифицировать 15 эколого-номенклатурных единиц инвазионного начала гельминтов домашних плотоядных (собак, кошек), к которым может относиться более 26 видов гельминтов: род *Toxocara*, род *Toxascaris*, семейство *Ancylostomatidae*, род *Trichocephalus*, семейство *Capillariidae*, род *Strongyloides*, семейство *Taeniidae*, род *Dipylidium*, семейство *Diphyllobothriidae*, род *Mesocostoides*, род *Opisthorchis*, род *Pseudamphistomum*, род *Alaria*, род *Rossicotrema*, род *Metorchis* [1, 2, 3].

Интенсивность контаминации внешней среды инвазионным началом плотоядных напрямую зависит от уровня урбанизации и может быть разделена на 3 группы: 1-я группа – населенные пункты с низкой урбанизацией (от 3 до 20 тыс. человек) – интенсивность контаминации внешней среды 4–52,6 %; 2-я группа – населенные пункты со средней урбанизацией (от 30 до 150 тыс. человек) – интенсивность загрязнения почвы 11–39,1 %; 3-я группа – населенные пункты с высокой урбанизацией (свыше 300 тыс. населения) – контаминация внешней среды на уровне 4,0–51,3 %.

Как показывают наши исследования, активная урбанизация способствует

увеличению биологической емкости среды обитания для безнадзорных животных. Установлена высокая степень встречаемости инвазионного начала, относящегося как к геогельминтам, так и биогельминтам. Преобладающим видом гельминта из группы геогельминтов, яйца которого имеют широкое распространение в образцах почвы населенных пунктов как с низкой, так и с высокой интенсивностью урбанизации, является *Toxocara spp.* Яйца гельминтов рода *Toxocara* были выявлены в 34,28–37,45 % положительных проб. Из группы биогельминтов наибольшее распространение имеют яйца тениидного типа – *Taenia spp.* (11,42–18,54 % положительных проб) [4].

Таким образом, поскольку гельминты, относящиеся к видам *Toxocara spp.* и *Taenia spp.*, являются зоонозными, создается реальная угроза передачи инвазионного начала от животных к человеку.

Дезинвазия внешней среды является одним из основных этапов в комплексе мероприятий по профилактике и ликвидации гельминтозов животных и человека.

В настоящее время на рынке предлагается большой перечень дезинфектантов, относящихся к различным группам действующих веществ. Однако только отдельные препараты содержат в инструкции информацию по эффективности в отношении инвазионного начала. Для разработки эффективных средств дезинвазии внешней среды необходимо понимать морфологическую и гистохимическую структуру инвазионного начала – яиц гельминтов, что позволит подбирать действующие компоненты, оказывающие наиболее глубокое повреждающее действие на структуру яиц, при максимальной экологичности.

**Целью данной работы** являлось изучение гистохимических и морфологических особенностей яиц гельминтов плотоядных животных, имеющих наибольшее санитарное значение на урбанизированных территориях республики, для разработки наиболее эффективных средств дезинвазии внешней среды.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

С целью более глубокого изучения морфологических и гистохимических особенностей инвазионного начала были выбраны яйца гельминтов рода *Toxocara* – *Toxocara canis* и рода *Taenia* – *Taenia pisiformis*, *Taenia hydatigena*. Оценка структурно-морфологических особенностей инвазионного начала гельминтов проводилась при получении яиц от экспериментально и спонтанно инвазированных животных, а также при отмывании яиц из контаминированных образцов почвы.

Чистую взвесь яиц гельминтов получали от экспериментально инвазированных щенков в возрасте 2 месяцев, содержащихся в условиях клиники кафедры паразитологии УО ВГАВМ [5].

Изучали морфологические особенности яиц при микроскопии нативных препаратов и после их обработки искусственным желудочным соком. Использовали дифференциальное окрашивание мембран малахитовым зеленым, а также проводили гистохимическое исследование оболочек и внутреннего содержимого яиц *Toxocara canis* и *Taenia spp.* [1, 5, 6].

Микроскопия осуществлялась с помощью микроскопа OLIMPUS BX 41 с системой визуализации.

Гистологические препараты готовились в условиях научной лаборатории и кафедры патологической анатомии и гистологии УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» путем заливки взвеси культуры яиц гельминтов в парафин и последующего нарезания препаратов на санном микротоме. Полученные препараты окрашивали гематоксилин-эозином, а также суданом III [7, 8, 9, 10].

Всего подвергнуто исследованию более 700 яиц различных видов гельминтов: *Toxocara canis* – 350 шт., *Taenia spp.* (*T. pisiformis*, *T. hydatigena*) – 400 шт.

Также после подкрашивания яиц малахитовым зеленым выполнялась микроскопия в ультрафиолетовом спектре при длине волны 180 нм.

В процессе выполнения исследований было использовано следующее лабораторное оборудование: микроскоп OLIMPUS BX 41, лабораторная центрифуга ЦЛМН P10-01, лабораторная центрифуга MINISPIN, термостат ТС-1/80-СПУ, рН-метр Hanna с электродами HI 1139, весы лабораторные электронные CPA 224S, термометр электронный Hanna, прибор измерительный ПОИНТ ПИ-002.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Визуальная оценка через световой микроскоп свежевыделенных (неинвазионных) яиц *Toxocara canis* позволила подтвердить наличие яиц округлой формы 75–90 мкм в диаметре желто-коричневого цвета, покрытых толстой многослойной ячеистой оболочкой, содержащих одну крупную зародышевую клетку, заполняющую все пространство яйца (рисунок 1).

В почве при температуре от плюс 12 °С до плюс 36 °С и влажности не ниже 4–8 % оплодотворенные яйца созревают, проходя стадии бластомера (рисунок 2),



Рисунок 1. – Неинвазионное яйцо *Toxocara canis*, заполненное зародышевой клеткой (нативный препарат, ×600)

морулы и, наконец, личинки (рисунок 3). Оптимальной для развития яиц токсокар является температура от плюс 24,0 °С до плюс 32,0 °С, при которой полное развитие яиц происходит в течение 7–10 суток при 3,0–4,5 % погибших яиц. Повышение температуры неблагоприятно сказывалось на развитии яиц *T. canis*. Температура плюс 37,0–40,0 °С вызывала гибель 100 % яиц токсокар спустя трое (инвазионные яйца) и четверо (неинвазионные яйца) суток после начала культивации. При температуре плюс 15,0–16,0 °С для полного развития яиц токсокар потребовалось 107 суток. Понижение температуры (ниже плюс 15 °С) останавливало развитие яиц токсокар на стадии 4 бластомеров при сохранении ими высокой жизнеспособности. Понижение температуры до плюс 2,0–3,0 °С способствовало практически полной остановке развития яиц [1, 11].

После того, как личинка совершит линьку и превратится в личинку в чехлике, яйцо становится инвазионным (рисунок 3).

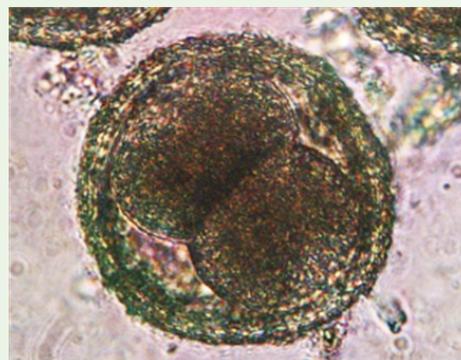


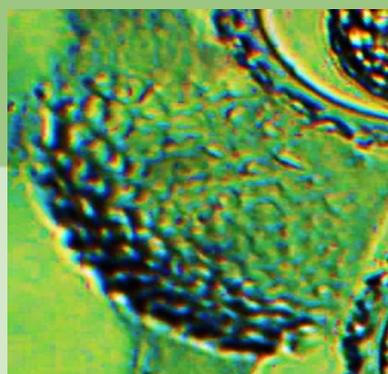
Рисунок 2. – Яйцо *Toxocara canis* с развившимися бластомерами (нативный препарат, ×600)



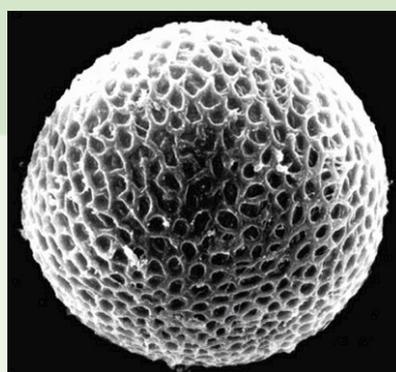
Рисунок 3. – Инвазионное яйцо *Toxocara canis*, содержащее личинку (нативный препарат, ×600)

Исследование яиц при гистохимической окраске, а также под сканирующим электронным микроскопом показывает, что наружная оболочка яйца *Toxocara canis*

*nis* достаточно толстая (32–37 нм), сильно ячеистая, хорошо выражены отдельные вдавливания, равномерно распределяющиеся по всей поверхности яйца (рисунки 4, 5).



а – гистосрез оболочки яйца,  $\times 600$ ; б – поверхность оболочки яйца,  $\times 600$   
**Рисунок 4. – Оболочка яйца *Toxocara canis* после окраски суданом III**



а – микроскопия в ультрафиолетовом свете; б – сканирующая микроскопия [12]  
**Рисунок 5. – Ячеистость оболочки яиц *Toxocara canis***

Наличие ячеистой структуры у внешней оболочки яиц токсакар, на наш взгляд, позволяет им осуществлять функции запаса воды и поглощения питательных веществ для обеспечения нужд зародышевой клетки.

При детальном изучении морфологии оболочки яйца *Toxocara canis* можно отметить полное отсутствие какой-либо сосудистой системы, поэтому мы полагаем, что поступление питательных веществ (а значит и дезинвазирующих комплексов) к зародышевой клетке может происходить только за счет диффузии (проникновения одного вещества в другое). Следовательно, необходима система, помогающая проникновению питательных веществ и воды из внешней среды в яйца гельминта. Наружный слой оболочки, по нашему мнению, действует как насос, забирая воду и пита-

тельные вещества из почвы и воздуха. Поглощение и испарение воды регулируется порами в оболочке. На гистосрезах оболочки яиц хорошо видно, что ячейки пронизывают только внешний слой, доходя до среднего слоя (рисунки 4, 5, 6, 7).

Средний блестящий слой – тонкая светлая яркая однородная полоска (рисунок 8), не имеющая клеточной структуры. Поглощенные с помощью ячеек вещества доходят до среднего слоя и дальше проникают в ткани яйца благодаря диффузии.

Гистохимическое исследование с использованием окраски гематоксилин-эозином, суданом III позволяет утверждать, что вещество, формирующее оболочку яйца, по своей природе является сложным белково-липидным комплексом – липопротеидом (рисунки 4, 6, 7). Окраска яиц *Toxocara canis* гематоксилин-эозином

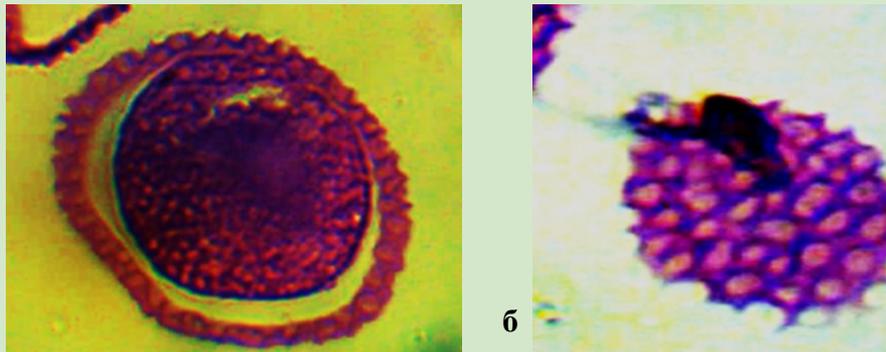
придает оболочке яйца и зародышевой клетке интенсивно красный цвет (рисунок 6). При этом в оболочке эозинофильно окрашивается только наружный слой. Из-за отсутствия окраски у внутренних слоев оболочки при гистохимическом исследовании с использованием гематоксилин-эозина на препарате возникает пустое пространство между оболочкой и зародышевой клеткой.

Обычно эозинофильные структуры представляют собой белковые комплексы.

Следовательно, наружная оболочка и зародышевая клетка яйца содержат значительное количество белкового вещества.

При окраске яйца *Toxocara canis* суданом III ткани зародышевой клетки интенсивно воспринимают краску, приобретая хорошо выраженный желтый цвет, что свидетельствует о большом содержании липидов (рисунок 7).

Оболочка яиц *Toxocara canis* также хорошо воспринимает окраску суданом III (рисунки 4, 7).

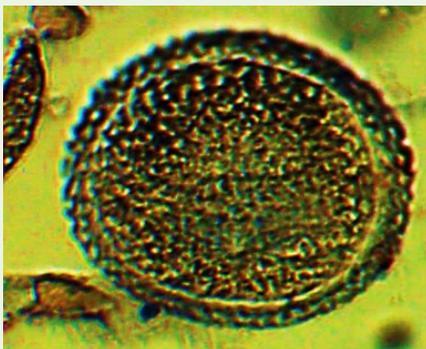


а – гистосрез тканей яйца,  $\times 600$ ; б – поверхность оболочки яйца,  $\times 600$

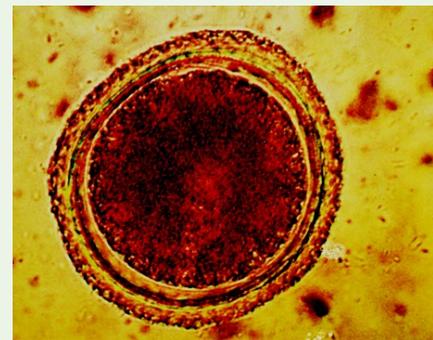
**Рисунок 6. – Ткани яйца *Toxocara canis* после окраски гематоксилин-эозином**

Изучение цитоморфологических особенностей яиц *Toxocara canis* после их окраски малахитовым зеленым позволяет установить наличие сложной структуриро-

ванности оболочки яйца, состоящей из не менее чем 5 слоев, характеризующихся различной степенью прокрашивания (рисунок 8).



**Рисунок 7. – Гистосрез яйца *Toxocara canis*, окрашенного суданом III,  $\times 300$**



**Рисунок 8. – Неинвазионное яйцо *Toxocara canis*, окрашенное малахитовым зеленым,  $\times 600$**

Таким образом, оболочка яйца *Toxocara canis* – это многослойный сложный биохимический комплекс, состоящий из следующих слоев:

- наружная оболочка липидно-белковая – прозрачная и бесцветная (в период на-

хождения яйца в половых органах гельминта), приобретает темно-желтую окраску и становится непрозрачной при выходе яйца в кишечник хозяина, так как окрашивается фекальным пигментом – именно она контактирует со внешней средой;

- средняя оболочка (блестящая) – трехслойная глянцевиная;

- внутренняя оболочка яиц липидная – многослойная, гладкая, прозрачная и бесцветная. Важнейшая задача этого слоя – обеспечивать влагопроницаемость, но задерживать органические вещества и соли.

Промежуток между зародышевой клеткой и внутренним слоем заполнен тонкой пластинчатой базальной мембраной (рисунки 4, 8), которая образована аморфным веществом и микроэлементами. Эта мембрана выполняет ряд важных функций:

- является основным барьером для проникновения инородных веществ в яйцо, в том числе и дезинвазирующих. Через нее могут пройти либо очень мелкие молекулярные препараты, либо масла и жирорастворимые вещества;

- проводит питательные вещества и кислород к зародышевой клетке или сформировавшейся личинке, а также выводит продукты их жизнедеятельности.

Такая мощная защита позволяет защищать зародышевую клетку, а в последующем – и развивающуюся личинку от повреждающих факторов внешней среды. Почва и трава высыхают, превращаются в пыль, которая может подниматься в воздух и рассеиваться на десятки метров. Вместе с пылью распространяются яйца токсокар. У яиц очень плотная оболочка, позволяющая им выживать в самых неблагоприятных условиях. Они могут сохранять жизнеспособность в течение нескольких лет.

Яйца тениидного типа – *Taenia spp.* – также обладают сложной морфологической структурой.

Следует учитывать, что яйца различных видов тениид (*Taenia pisiformis*, *Taenia hydatigena*, *Echinococcus granulosus*, *Alveococcus multilocularis* и др.) практически не различимы.

При изучении свежесыведенных яиц *Taenia spp.* в нативном препарате отмечено, что они округлые или овальные, размером 30–40 мкм, покрыты тонкой прозрачной оболочкой без выраженной внешней окраски. Внутри яйца находится округлая онкосфера диаметром 29–30 мкм (рисунок 9).

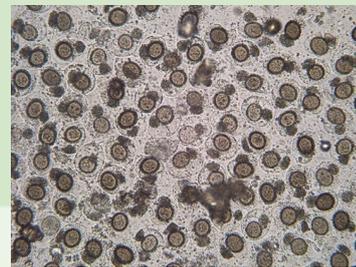


Рисунок 9. – Яйца тениидного типа *Taenia hydatigena* (нативный препарат, ×200)

Во внешней среде наружная (хорионовая) оболочка яйца быстро разрушается, и при последующем микроскопировании видны только онкосферы (рисунки 10, 11). В связи с этим при изготовлении препаратов с яйцами тениидного типа фактически получаем препараты из онкосфер тениид.



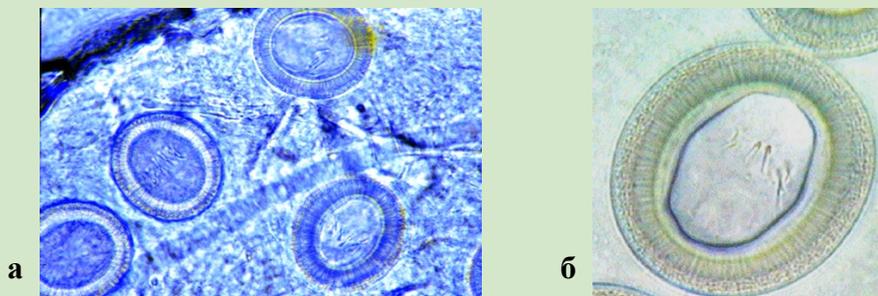
а – онкосфера, окруженная яйцевой оболочкой, ×400;  
б – онкосфера, лишенная яйцевой оболочки, ×600

Рисунок 10. – Онкосфера *Taenia spp.*

Внутри онкосферы содержится зародышевая клетка – гексакантный эмбрион, снабженный тремя парами эмбриональных крючьев (рисунок 11).

При окраске яиц *Taenia spp.* малахитовым зеленым и последующем исследова-

нии в ультрафиолетовом свете хорошо просматривается двухконтурная желто-коричневого цвета гладкая поперечно исчерченная оболочка онкосферы – эмбриофор (рисунок 11).



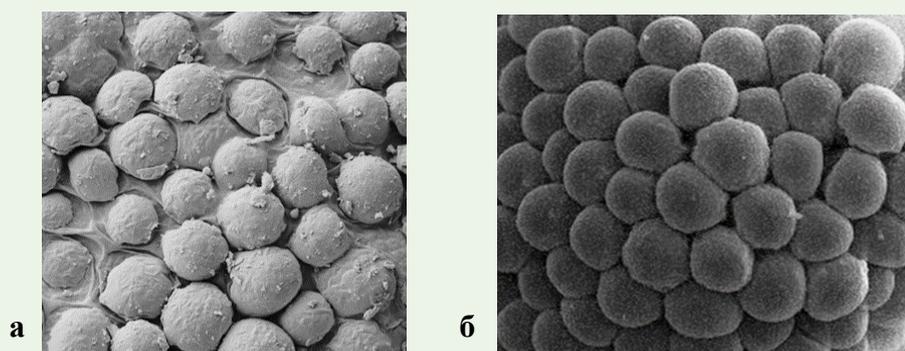
а – гексакантный эмбрион, снабженный тремя парами эмбриональных крючьев;  
б – поперечная исчерченность внутреннего слоя эмбриофора, ×600

**Рисунок 11. – Онкосферы *Taenia spp.* в ультрафиолетовом свете, ×400**

При изучении фотографий внешней оболочки онкосфер тениид, полученных на сканирующем электронном микроскопе (×7000), обнаруживается хорошо выраженная бугристость (рисунок 12). Мы полагаем, что бугристость наружной оболочки яиц тениид выполняет ту же функцию, что и ячейки наружной оболочки яиц токсакар – это своеобразный насос, увеличивающий поверхность для активного поглощения воды и питательных веществ из внешней среды.

Внешний слой эмбриофора плотный, не содержит межклеточных элементов. От него внутрь отходят микроворсинки, отчего при большом увеличении внутренний слой выглядит поперечно исчерченным (рисунки 11а, б, 13).

Поперечная исчерченность внутреннего слоя эмбриофора является видоспецифичным, дифференциальным признаком для яиц *Taenia spp.*



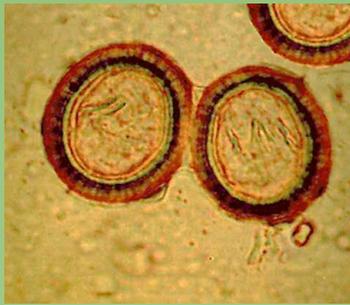
а – *Taenia hydatigena*; б – *Taenia pisiformis*

**Рисунок 12. – Онкосфера *Taenia spp.* под сканирующим электронным микроскопом, ×7000**

Внутренний поперечно исчерченный слой не имеет клеточного строения. Он выполняет функции защиты зародыша от механических повреждений и действия вредных биотических факторов (бактериальных

и токсических), а также передачи питательных веществ зародышевой клетке.

Между внутренним слоем эмбриофора и зародышевой клеткой располагается биполярная мембрана (рисунки 11б, 13).



**Рисунок 13. – Онкосферы *Taenia spp.* после дифференцированной окраски, ×600**

Учитывая, что у эукариотических организмов имеются общие структурные особенности (их внутренние мембраны состоят из комплекса липидных и белковых молекул), можно утверждать, что мембрана, отделяющая эмбриофор и зародышевую клетку, имеет белково-липидный состав, что подтверждается гистохимическими исследованиями.

Обычно белки составляют около 50 % массы мембраны. Поскольку размер молекул липидов значительно меньше по сравнению с белковой молекулой, в мембране молекул липидов намного больше, чем молекул белка. Принято считать, что если белки составляют 50 % массы мембраны, то на одну молекулу белка приходится более 50 молекул липидов. На 1 мкм<sup>2</sup> липидного бислоя расположено примерно  $5 \times 10^6$  молекул липидов. Таким образом, особенности мембраны определяются свойствами липидного бислоя.

Полученные нами данные показывают, что оболочки яиц санитарно значимых видов гельминтов обладают сложной морфобиохимической структурой, что защищает их от физических факторов внешней среды и не позволяет большинству химических соединений проникать внутрь яйца.

На основании проведенных нами исследований установлено полное отсутствие дезинвазионных свойств в отношении яиц *Toxocara canis* и *Taenia spp.* у препаратов, относящихся к группе окислителей (перекись водорода и перманганат калия в концентрациях от 1 до 30 %), щелочей (гидроокись натрия 1–3%-ной концентрации), органических кислот (молочная

кислота, 5–20%-ный раствор), а также полибигуанидинов (концентрация 5–50 %) (рисунки 14, 15). Отсутствием овоцидных свойств в отношении яиц токсокар и тений характеризуется и гипохлорит натрия, полученный электрохимическим способом, с концентрацией активного хлора менее 7 мг/л. При концентрации активного хлора 7–90 мг/л наблюдается растворение наружной оболочки 100 яиц токсокар при сохранении их жизнеспособности в среднем  $94,40 \pm 0,26$  % спустя 1, 3 и 24 часа экспозиции (рисунок 16а).

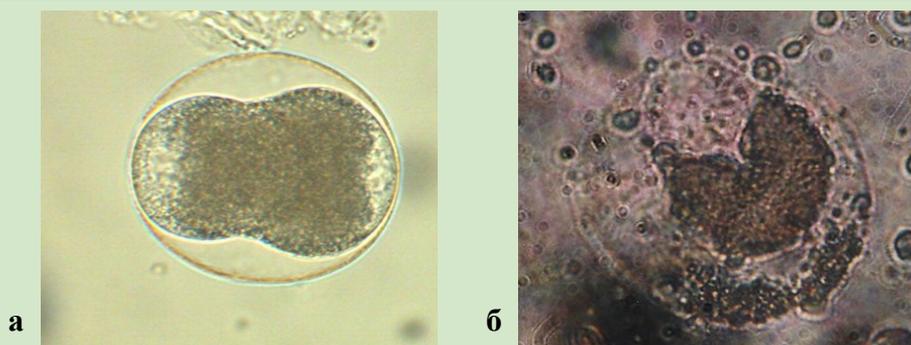
У онкосфер тениид в растворе гипохлорита натрия с концентрацией активного хлора 7 мг/л или же в 1%-ном растворе хлорной воды при температуре плюс 36–38 °С растворяется защитная оболочка, высвобождая жизнеспособный, подвижный гексакантный эмбрион, который не изменяется в течение 24 часов нахождения в данных растворах, полностью сохраняя инвазионные свойства (рисунок 16б) [13, 14, 15].



**Рисунок 14. – Результат механического воздействия на яйцо *Toxocara canis* после обработки водным раствором  $KMnO_4$ ,**



**Рисунок 15. – Результат воздействия органических кислот на яйца *Toxocara canis* (слева – погибшее), ×400**



а – яйцо токсокары на стадии 2 бластомеров;

б – выход гексакантного эмбриона из онкосферы тении

**Рисунок 16. – Результат воздействия электрохимического гипохлорита натрия с концентрацией активного хлора 7 г/л на яйца гельминтов плотоядных, ×400**

Учитывая данные гистохимического исследования и морфологических особенностей яиц токсокар и тений, можно предположить, что для получения положительного эффекта при дезинвазионной обработке внешней среды, контаминированной яйцами *Toxocara spp.* и *Taenia spp.*, средство должно обладать комплексным воздействием, затрагивающим прежде всего липиды для полного разрушения всей структуры оболочки.

Однако, как показывает практика, зачастую для дезинвазии внешней среды действия одних химических веществ недостаточно либо необходимы чрезмерно высокие концентрации препаратов, которые являются экологически небезопасными.

Мы изучили возможность сочетания воздействия как химических веществ, так и физических факторов с целью получения экологически безопасных средств дезинвазии внешней среды. Для этого нами в качестве основы дезинвазирующего средства были использованы монтмориллонитовые глины (бентонит – содержит не менее 60 % минералов монтмориллонитовой группы; трепел – сложная смесь минералов с содержанием 18–25 % монтмориллонитов).

Уникальность монтмориллонитовых глин обусловлена их структурой. Бентонит имеет большую площадь поверхности, которая состоит из очень маленьких отрицательно заряженных частиц, идеально подходящих для притягивания к положительно заряженной оболочке яиц гельминтов. Химически и структурно монтмо-

риллонитовые глины имеют плоскую форму с отрицательными зарядами на плоской поверхности и положительными зарядами по краям. Поэтому отрицательный заряд во много раз сильнее, чем положительный.

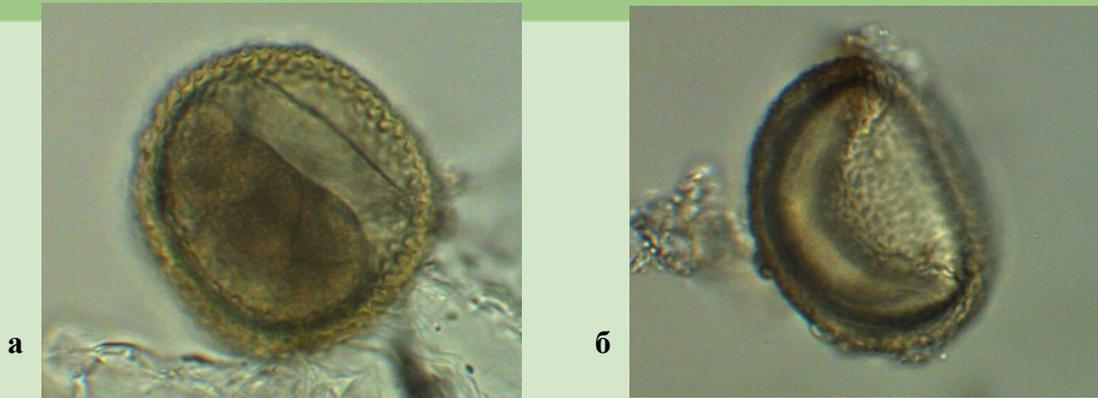
В случае поступления яиц гельминтов в почву, вне зависимости от уровня залегания, характер их развития будет определяться почвенной влагой. Влагопоглощающая активность монтмориллонитовых глин (бентонит, трепел) находится на уровне 140–200 %. Таким образом, санитарные средства на основе монтмориллонитовых глин, внесенные в почву, активно поглощают свободную воду, создавая среду с минимальным содержанием влаги. Один грамм бентонита при полном диспергировании имеет площадь около 800 м<sup>2</sup>. Чем больше площадь поверхности глины, тем больше мощность для сбора положительно заряженных частиц и облипания яиц гельминтов.

По результатам проведенных исследований минимальная влажность среды для развития яиц токсокар при температуре плюс 24,0–26,0 °С лежит в пределах 55,0–59,0 %, когда полное развитие яиц гельминта происходило спустя 19 суток. Инвазионной стадии к этому времени достигали 66,60±0,30 % яиц при 33,40±0,30 % погибших. Повышение влажности среды способствует ускорению развития яиц токсокар при снижении числа погибших. Оптимальной по результатам исследования следует считать влажность воздуха свыше 82,0 %, когда полное развитие

яиц токсокар происходило по истечении 12 суток при  $95,57 \pm 0,35$  % жизнеспособных. Спустя 28 суток наблюдения жизнеспособность сохраняли  $95,02 \pm 0,38$  % яиц.

Снижение влажности среды за счет санитарных средств на минеральной основе до 40,0 % приводило к прекращению

развития яиц токсокар, 100%-ной их гибели в течение 7 дней. При влажности почвы ниже 8,0 % спустя 48 часов отмечались необратимые изменения их морфологической структуры в виде впячивания оболочки (рисунок 17), что приводило к гибели 100 % яиц.



а – неинвазивное яйцо; б – инвазивное яйцо

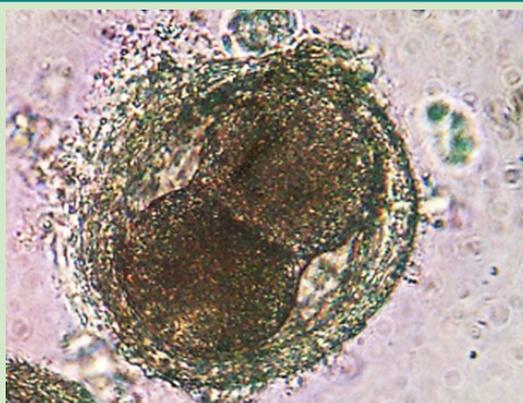
**Рисунок 17. – Деформация яиц *T. canis* в условиях пониженной влажности среды (нативный препарат,  $\times 600$ )**

Наблюдение за онкосферами тениид также показывает резкую потерю ими инвазивных свойств при снижении влажности внешней среды. Так, в условиях влажности более 80 % и высокой насыщенности среды кислородом (дополнительная аэрация) онкосферы тениид сохраняют инвазивные свойства более 220 дней (период наблюдения). Внесение в почву минеральных осушителей и понижение влажности среды до 60,0 % привело к снижению инвазивных свойств 50,0 % онкосфер тениид в течение 120 дней наблюдения. Дальнейшее снижение влажности почвы за счет осушающих средств (менее 40,0 %) обусловило потерю инвазивной активности 86 % онкосфер тениид в течение 3 недель наблюдения.

Однако внесение в почву санитарных средств на основе минералов монтмориллонитовой группы обуславливает не только эффект обезвоживания, но и способствует механическому разрушению. Оболочка яиц гельминтов имеет положи-

тельный электрический заряд. Заряд поверхности яиц гельминтов взаимодействует с зарядами монтмориллонитов, входящих в состав санитарных средств на минеральной основе, что приводит к налипанию частиц минеральной основы к оболочке яиц гельминтов. В результате забиваются поры в оболочке яиц, нарушая поступление питательных веществ и выделение эндогенных токсинов, образовавшихся в яйцах.

Как нами было установлено, оболочка яиц гельминтов в основном состоит из органических веществ – липопротеидов, а неорганические соединения составляют менее 1 % сухой массы. Мы предполагаем, что в результате механического воздействия налипшего на поверхность яиц гельминтов минерального порошка (монтмориллонитовая глина) нарушается целостность оболочки, что обуславливает потерю защитных функций и нарушение питания (рисунок 18).



**Рисунок 18. – Разрушение оболочки яйца *Toxocara canis* под воздействием минералов монтмориллонитовой группы (нативный препарат, ×600)**

### **ВЫВОДЫ**

Полученные нами данные показывают, что оболочки яиц санитарно значимых видов гельминтов домашних плотоядных обладают сложной морфобиохимической структурой, защищающей их от физических факторов внешней среды и не позволяющей большинству химических соединений проникать внутрь яйца.

Оболочка яйца *Toxocara canis* – это многослойный сложный биохимический комплекс, состоящий из 5 слоев.

При окраске яиц *Taenia spp.* малахитовым зеленым и последующем исследовании в ультрафиолетовом свете хорошо просматривается двухконтурная желто-коричневого цвета гладкая поперечно исчерченная оболочка онкосферы – эмбриофор.

Такая мощная защита позволяет защищать зародышевую клетку, а в последующем – и развивающуюся личинку от повреждающих факторов внешней среды. Они могут сохранять жизнеспособность в течение нескольких лет.

Установлено полное отсутствие дезинвазионных свойств в отношении яиц *Toxocara canis* и *Taenia spp.* препаратов, относящихся к группе окислителей (перекись водорода, перманганат калия 1–30 %), щелочей (гидроокись натрия 1–3 %), органических кислот (молочная кислота 5–20 %), а также полибигуанидинов.

Отсутствием овоцидных свойств в отношении яиц токсокар характеризуется и гипохлорит натрия, полученный электрохимическим способом, с концентрацией активного хлора менее 7 мг/л. У онкосфер тениид в растворе гипохлорита натрия с концентрацией активного хлора 7 мг/л растворяется защитная оболочка, высвобождая жизнеспособный, подвижный гексакантный эмбрион, который не изменяется в течение 24 часов нахождения в данных растворах, полностью сохраняя инвазионные свойства.

Внесение санитарных средств на минеральной основе (бентонит, трепел) в почву или подстилочный материал создает условия, неблагоприятные для развития и сохранения жизнеспособности яиц гельминтов. Снижение влажности среды за счет санитарных средств на минеральной основе до 40,0 % приводило к прекращению развития яиц токсокар и 100%-ной их гибели в течение 7 дней. При влажности почвы ниже 8,0 % спустя 48 часов отмечалось развитие необратимых изменений морфологической структуры у 100 % яиц.

Санитарно-зоогигиенические средства на минеральной основе благодаря электрическому заряду обладают способностью активно прилипать к поверхности яиц, полностью покрывая их, делая невозможным обменные процессы со внешней средой, способствуя их активному обезвоживанию и гибели.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Дубина, И. Н. Гельминтозы собак / И. Н. Дубина. – Витебск : УО ВГАВМ, 2006. – 200 с.
2. Дубина, И. Н. Сравнительный анализ контаминации почвы северного и южного регионов Республики Беларусь яйцами гельминтов плотоядных / И. Н. Дубина, А. В. Позывайло // Проблемы оценки, мониторинга и сохранения биоразнообразия : труды III респ. науч.-практ. эколог. конф., г. Брест / УО БрГУ им. А.С. Пушкина. – Брест, 2019. – С. 121–126.
3. Дубина, И. Н. Цестодозы животных (общие и прикладные аспекты) : монография / И. Н. Дубина, А. И. Ятусевич. – Витебск : УО ВГАВМ, 2007. – 406 с.
4. Влияние урбанизации на эколого-видовой состав инвазионного начала гельминтов плотоядных, контаминирующих почву в населенных пунктах Республики Беларусь / И. Н. Дубина [и др.] // Вестник МГПУ. – 2020. – № 17. – С. 35–43.
5. Дубина, И. Н. Методические указания по проведению диагностики гельминтозов плотоядных : утв. ГУВ МСХиП РБ 11.09.2007 г. / И. Н. Дубина. – Витебск : УО ВГАВМ, 2008. – 36 с.
6. Дубина, И. Н. Ветеринарно-санитарные правила по паразитологическому обследованию объектов внешней среды : утв. ГУВ МСХиП РБ 11.09.2007 г. / И. Н. Дубина, А. И. Ятусевич, Е. Б. Криворучко. – Витебск : УО ВГАВМ, 2008. – 48 с.
7. Артюшовский, А. А. Гистология с техникой гистологических исследований / А. А. Артюшовский, А. С. Леонтьев, Б. А. Силка. – Минск : Высшая школа, 1999. – С. 201.
8. Неменкова, Ю. М. Методы лабораторных клинических исследований / Ю. М. Неменкова. – М. : Медицина, 1972. – С. 180–357.
9. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / В. В. Меньшиков, [и др.]. – М. : Медицина, 1987. – С. 107–108, 110–112, 122–124, 137, 191–192, 216–217.
10. Меркулов, Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – Ленинград, 1969. – С. 89–114.
11. Дубина, И. Н. Роль внешней среды в распространении и сохранении гельминтозов собак / И. Н. Дубина // Ветеринарная наука – производству : науч. тр. – Вып. 40. – Минск, 2007. – С. 208–213.
12. *Toxosara canis* [Электронный ресурс] // Официальный сайт ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет», кафедра «Медицинская кибернетика и информатика». – Режим доступа: <https://medic.pnzgu.ru/page/15911>. – Дата доступа: 02.11.2021.
13. Дубина, И. Н. Повышение эффективности дезинвазии внешней среды / И. Н. Дубина, И. М. Рябинкова, Е. Б. Криворучко // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск, 2013. – Т. 49, вып. 1, ч. 2. – С. 85–89.
15. Дубина, И. Н. Эффективности дезинвазии внешней среды, контаминированной яйцами гельминтов собак / И. Н. Дубина // Паразитарные системы и паразитозы животных : материалы V науч.-практ. конф. Междунар. ассоциации паразитологов, Витебск, 24–27 мая 2016 г. / УО ВГАВМ. – С. 47–51.
16. Дубина, И. Н. Эффективность применения электроактивизированных растворов поваренной соли для дезинвазии внешней среды / И. Н. Дубина, И. М. Рябинкова // Ученые записки УО ВГАВМ. – Витебск, 2010. – Т. 46, вып. 1, ч. 1. – С. 109–112.

## наша продукция



Орипов А.О., доктор ветеринарных наук, профессор<sup>1</sup>  
Юлдашов Н.Э., доктор ветеринарных наук<sup>1</sup>  
Джаббаров Ш.А., доктор ветеринарных наук, профессор<sup>1</sup>  
Тугузов Ю.М., кандидат ветеринарных наук<sup>1</sup>  
Улашов И.А., докторант<sup>1</sup>  
Кучинский М.П., доктор ветеринарных наук, профессор<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт ветеринарии Государственного комитета Республики Узбекистан по ветеринарии и развитию животноводства, пос. Тайляк

<sup>2</sup>РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслеского», г. Минск

## НОВЫЕ МОЛЛЮСКОЦИДЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ФАСЦИОЛЁЗА, ШИСТОСОМОЗА (ОРИЕНТОБИЛЬГАРЦИОЗА) И ПАРАМФИСТОМАТИДОЗОВ

### Резюме

В статье приводятся результаты поиска и разработки методов применения новых моллюскоцидов, доступных практикующим ветеринарным специалистам и животноводам. Установлено, что широко применяемые в сельском хозяйстве минеральные удобрения – сульфат аммония и хлорид калия – в концентрациях 0,1–0,2 % обладают достаточно высоким (95–100 %) моллюскоцидным эффектом против пресноводных моллюсков *Lymnaea* и *Planorbis* – промежуточных хозяев возбудителей фасциолёза, шистосомоза (ориентобильгарциоза) и парамфистоматидозов. Значительный моллюскоцидный эффект установлен от применения перманганата калия (марганцовки) и перекиси водорода, которые показали 100%-ную эффективность в концентрациях 1:400000 и 1:40000 соответственно. Определённым моллюскоцидным свойством обладают поваренная соль и пищевая сода в концентрациях 1:200–1:250 в отношении объема воды водоёма.

**Ключевые слова:** моллюски, моллюскоциды, гельминтозы, фасциолёз, шистосомоз (ориентобильгарциоз), парамфистоматидозы.

### Summary

The article presents the results of the search and development of methods for the use of new molluscicides available to practical veterinary specialists and livestock breeders. It was found that mineral fertilizers widely used in agriculture – ammonium sulfate and potassium chloride have a sufficiently high (95–100 %) molluscicidal effect against freshwater mollusks *Lymnaea* and *Planorbis*, intermediate hosts of pathogens of fascioliasis, schistosomiasis, (orientobilharziasis) and paramphistomiasis in concentrations of 0,1–0,2 %. A significantly high molluscicidal effect was established from the use of (potassium permanganate) and hydrogen peroxide, which show 100 % efficacy at concentrations of 1:400000 and 1:40000. Table salt and tea soda have a certain molluscicidal property, in concentrations of 1:200–1:250 in relation to the volume of water in the reservoir.

**Keywords:** molluscs, molluscicides, helminthoses, fasciolosis, schistosomiasis (orientobilharziasis), paramphistomatidoses.

Поступила в редакцию 29.11.2021 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Известно, что развитие животноводства, повышение рентабельности этой отрасли всецело зависит от обеспеченности достаточной и полноценной кормовой базой, соблюдения технологических норм ведения животноводства, улучшения племенного состава животных и внедрения

эффективных приёмов их кормления и содержания.

Однако немаловажное значение имеет внедрение в данную отрасль современных методов и средств профилактики и лечения различных инфекционных, инвазионных и незаразных болезней, в том числе гельминтозов.

На всех континентах широко распространены такие опасные для крупного рогатого скота, овец и коз гельминтозы, как трематодозы, вызываемые представителями класса *Trematoda*: фасциолёз, шистосомозы, парамфистоматидозы.

Эти гельминтозы, особенно фасциолёз и шистосомозы, поражая жизненно важные органы (печень, кровеносную систему) животных, приводят к глубоким патологическим изменениям в организме, что обуславливает не только резкое снижение продуктивности, но и гибель значительного числа заболевших животных. Не менее опасными являются и парамфистоматидозы – парамфистомоз, лиорхоз, каликофороз, гастротилиаксоз, возбудители которых, паразитируя в большом количестве (сотни, тысячи) в пищеварительном тракте (преджелудки, кишечник) жвачных животных, резко нарушают процессы пищеварения и приводят к исхуданию и снижению, а нередко и полной потере молочной и мясной продуктивности животных.

Следовательно, разработка и внедрение в ветеринарную практику новых, более эффективных, удобных и доступных животноводческим хозяйствам методов и средств профилактики этих гельминтозов, несомненно, имеет большое научно-практическое значение.

Борьба с вышеназванными трематодозами основывается на систематическом проведении лечебно-профилактических дегельминтизаций и мероприятий против пресноводных моллюсков (р. *Lymnae* и р. *Planorbis*) – промежуточных хозяев возбудителей фасциолёза, шистосомоза (ориентобильгарциоза) и парамфистоматидозов.

Считаем, что в этом комплексе мероприятий следует отдать предпочтение профилактическим мерам, т.е. борьбе с моллюсками, в организме которых и развиваются инвазионные стадии трематод – возбудителей этих опасных гельминтозов.

Борьба с моллюсками основывается на уничтожении или снижении их популяции механическим путём, т.е. осушением мелких водоёмов и заболоченных (увлажнённых) участков пастбищ, биологическим

путём – разведением водоплавающих птиц, поедающих пресноводных моллюсков, а также химическим путём – уничтожением моллюсков с помощью моллюскоцидов химической природы.

Мы считаем, что наиболее эффективными и надёжными являются химические методы, основанные на применении моллюскоцидов. Однако при этом следует учитывать и вопросы охраны окружающей среды, т.е. использовать в качестве моллюскоцидов средства, менее опасные для внешней среды, организма животных и в целом для фауны и флоры.

Для борьбы с моллюсками, являющимися промежуточными хозяевами возбудителей многих гельминтов, в том числе фасциолёза, ориентобильгарциоза (шистосомозов) и парамфистоматидозов, разработан и рекомендован ряд моллюскоцидов химической природы – 5,4<sup>1</sup> дихлорсалициланилид, медный купорос (CuSO<sub>4</sub>), которые, наряду с достаточно высокими моллюскоцидными, обладают и определёнными токсическими свойствами, а механические и биологические методы борьбы с моллюсками не всегда дают желаемый результат [1, 2, 3].

Исходя из вышеизложенного, **цель наших исследований** заключалась в изыскании и разработке технологии применения моллюскоцидов, сравнительно безопасных для окружающей среды, животных и людей, а также доступных для практикующих ветеринарных специалистов и животноводов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследований – пресноводные моллюски, биотопы моллюсков, моллюскоциды химической природы, фауна и флора биотопов моллюсков. Методы исследований – малакологические, гельминтологические, химико-токсикологические, клинические, гематологические.

Нами испытаны в качестве моллюскоцидов и установлена эффективность следующих химических средств: минеральных удобрений – сульфата аммония, хлорида калия, фосфомочевины; средств, при-

меняющихся в пищевой промышленности, – поваренной соли (NaCl) и пищевой (бикарбонатной) соды (NaHCO<sub>3</sub>); веществ, применяющихся в медицине и ветеринарии, – перекиси водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), перманганата калия (KMnSO<sub>4</sub>); дезинфицирующих средств – щелочи (NaOH), соляной кислоты (HCl).

Моллюскоцидную активность этих средств изучали как в условиях лаборатории, т.е. в аквариумах объемом 5–10 л, на 1/2 заполненных артезианской (нехлорированной) водой с водной растительностью, так и непосредственно на естественных биотопах (родники, ручьи, реки, каналы, арыки, увлажнённые участки пастбищ).

В лабораторных опытах были изготовлены различные концентрации (от 0,01 до 1,5 %) испытуемых в качестве моллюскоцидов химических средств с артезианской водой, в которые помещали по 50–100 экз. моллюсков *Lymnaea* и *Planorbis*, свежесобранных в естественных биотопах. За состоянием моллюсков вели наблюдения, учитывали количество живых и мёртвых особей в разные периоды экспозиции (от 30 минут до 10 суток).

В естественных биотопах подсчитывали количество моллюсков на определённой площади (10, 100 см<sup>2</sup>) в зависимости от плотности их заселения до обработки биотопа моллюскоцидами, через 30 минут, 12, 24, 48 часов и 5, 10 суток. При этом определяли состояние моллюсков, степень их подвижности, количество мёртвых и живых особей. По результатам этих исследований оценивали моллюскоцидное действие испытуемых химических средств.

Нами проведены также клинические и гематологические исследования, направленные на определение действия моллюскоцидов на организм овец.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты определения действия некоторых минеральных удобрений, применяемых в сельском хозяйстве, в частности в растениеводстве, на пресноводных моллюсков рода *Lymnaea* и *Planorbis*, промежуточных хозяев патогенных трема-

тод (фасциол, шистосом и парамфистома-тод), показывают, что калия хлорид в концентрации 0,1 % вызывает гибель моллюсков за 6–10 суток, в концентрации 0,2 % – за 3–5 суток, в концентрации 0,3–0,5 % и 0,5–1,0 % – за 1 сутки и 2–12 часов соответственно (таблица 1). При более высоких концентрациях (0,5–1,0 %) моллюски сравнительно быстро (за 2–3 часа) погибают, и мягкое тело как бы выпадает из раковины.

Аналогичное, но более выраженное моллюскоцидное действие проявляет аммония сульфат в концентрации 0,05–1,0 %. Значительное моллюскоцидное действие этого средства в низкой концентрации (0,05 %) очевидно в течение 48 часов, когда погибает 100 % моллюсков. Такое же действие данного моллюскоцида при его применении в концентрации 0,1 % наблюдается уже в течение 24 часов, а при концентрации 1,0 % – за 12 часов.

Сравнительно слабое моллюскоцидное действие на пресноводных моллюсков *Lymnaea* и *Planorbis* оказывает фосфомочевина, которая также применяется в качестве удобрения в растениеводстве. Так, испытание ее в концентрации 0,05 % вызывает гибель большинства моллюсков в течение 10 дней, в концентрации 0,1–0,3 % – за 8 дней, а в концентрации 0,4–0,6 % – за 7 дней. При концентрациях этого средства 0,7–1,0 % также требуется относительно длительное время (таблица 1).

Для сравнения и в качестве контроля была испытана также обычная поваренная соль (NaCl) в концентрациях от 0,05 до 1,5 %. Результаты испытания показали, что при концентрациях 0,2–0,3 % наблюдается кладка яиц и развитие нового поколения моллюсков. Применение концентрации 0,4–0,7 % вызывает гибель моллюсков в течение 48 часов, и лишь 0,8–1,5%-ные концентрации соли обеспечивают гибель 95–100 % моллюсков за 24 часа (таблица 1).

Результаты этих исследований свидетельствуют о том, что использование минеральных удобрений (сульфата аммония и хлорида калия) в качестве средства против

моллюсков – промежуточных хозяев возбудителей фасциолёза, ориентобильгарциоза (шистосомоза) и парамфистоматидозов – является, на наш взгляд, перспективным и вполне целесообразным.

зов – является, на наш взгляд, перспективным и вполне целесообразным.

Таблица 1. – Действие некоторых минеральных удобрений и поваренной соли на пресноводных моллюсков *Lymnaea* и *Planorbis*

Наименование моллюскоцида	Испытанные концентрации, %	Концентрации, проявившие моллюскоцидное Действие, %	Продолжительность моллюскоцидного действия
Калия хлорид (минеральное удобрение)	0,05–1,2	0,1	6–10 дней
		0,2	3–5 дней
		0,3–0,5	1 день
		0,5–1,0	2–12 часов
Аммония сульфат (минеральное удобрение)	0,05–1,0	0,05	48 час
		0,1	24 часа
		1,0	12 часов
Фосфомочевина (минеральное удобрение)	0,05–1,0	0,05	10 дней
		0,1–0,3	8 дней
		0,4–0,6	7 дней
		0,7–1,0	7 дней
Поваренная соль	0,05–1,5	0,2–0,3	не погибают
		0,4–0,7	48 часов
		0,8–1,5	24 часа

Анализ оптимальных концентраций моллюскоцидов показал, что сульфат аммония, примененный в концентрации 0,1 % эффективен против моллюсков (таблица 2). Действенной является и 0,2%-ная концентрация хлорида калия, которая приводит к гибели 100 % моллюсков в течение 24 часов.

Применение минеральных удобрений в качестве моллюскоцидов выгодно ещё и потому, что, во-первых, они вполне доступны, во-вторых, безопасны для экологии, в-третьих, не требуется дополнительных затрат. Нами также установлено,

что применение этих средств в качестве моллюскоцидов является безопасным не только для окружающей среды, но и для животных. Так, в опытах на овцах в возрасте от 1 года до 5 лет, проведённых в условиях лаборатории, установлено, что вольное выпаживание в течении 3 дней 0,2%-ного раствора сульфата аммония, 0,3%-ного раствора хлорида калия и в качестве контроля 0,5%-ного раствора поваренной соли не вызывает каких-либо патологических изменений в общем клиническом состоянии (наличие аппетита, нормальной дефекации и мочеиспускания).

Таблица 2. – Результаты определения оптимальных концентраций моллюскоцидов

Наименование моллюскоцида	Концентрация, %	Степень губительного действия моллюскоцидов, %				
		2 часа	24 часа	72 часа	6 дней	10 дней
Аммония сульфат	0,5	100,0	наблюдения прекращены			
	0,3	70,0	100,0	-	-	-
	0,2	40,0	100,0	-	-	-
	0,1	50,0	100,0	-	-	-
	0,05	70,0	100,0	-	-	-
Калия хлорид	1,0	100,0	наблюдения прекращены			
	0,5	70,0	100,0	-	-	-
	0,2	30,0	100,0	-	-	-
	0,1	20,0	50,0	75,0	95,0	95,0
	0,05	10,0	25,0	100,0	наблюдения прекращены	

Для определения действия моллюскоцидов на гематологические показатели вводили овцам растворы моллюскоцидов при помощи зонда в количестве 1–1,5 л, до этой процедуры и через 3 дня после нее определяли показатели крови (количество эритроцитов, лейкоцитов и гемоглобина).

Эти исследования проводились общепринятыми в гематологии методами, показатели, полученные до и после введения овцам моллюскоцидов, подвергались сравнительному анализу и статистической обработке. Результаты исследований приведены в таблице 3.

Таблица 3. – Некоторые гематологические показатели овец до и после вольной дачи моллюскоцидов ( $M \pm m$ ,  $p$ )

Наименование моллюскоцида	Эритроциты, млн/мм <sup>3</sup>	Лейкоциты, тыс./мм <sup>3</sup>	Гемоглобин, г/л
Калия хлорид, 0,3 %	до дачи		
	8,92±0,3	6,66±0,51	75,6±0,1
Аммония сульфат, 0,2 %	6,7±0,6	6,66±0,41	83,6±16,2
Поваренная соль, 0,5 %	6,7±0,86	7,0±0,05	90,6 ±5,8
через 72 часа после дачи			
Калия хлорид, 0,3 %	11,5±0,83 P<0,05	6,9±0,17 P>0,05	84±10,8 P>0,05
Аммония сульфат, 0,2 %	9,9±0,28 P<0,05	7,3±0,25 P>0,09	97±11,6 P<0,05
Поваренная соль, 0,5 %	10,4±0,98 P<0,05	7,3±0,17 P>0,05	83,6±12,2 P<0,05

Проведенные нами клинические исследования показали, что выпаивание овам растворов моллюскоцидов в тех концентрациях, в которых они оказали достаточно высокое моллюскоцидное действие, не влияет отрицательно на общее клиническое состояние овец: аппетит, дефекация и мочеиспускание не подвергались заметным изменениям.

Не подверглись глубоким патологическим изменениям и гематологические показатели овец (таблица 3): отмечалось лишь достоверное ( $P < 0,05$ ) повышение количества эритроцитов на 2–3 млн/мм<sup>3</sup>, гемоглобина – на 10–15 г/л, а количество лейкоцитов не претерпевало резких изменений.

Помимо этих минеральных удобрений (сульфат аммония и хлорид калия), нами испытаны моллюскоцидные свойства ряда других доступных и применяемых в медицине и ветеринарии средств: перманганата калия (KMgSO<sub>4</sub>), перекиси водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), а также обычной пищевой соды – бикарбоната натрия (NaHCO<sub>3</sub>). Испытания этих средств в различных концентрациях против *Lymnaea* и *Planorbis* как в лабораторных условиях, так и непосредственно на биотопах этих моллюсков показали, что перманганат калия проявляет достаточно высокий моллюскоцидный эффект в срав-

нительно низкой концентрации, т.е. в соотношении с водой водоёма 1:400000.

Аналогичный, но сравнительно низкий эффект установлен при использовании перекиси водорода: концентрация 1:40000 приводит к 100%-ной гибели моллюсков в течение 24 часов. Широко применяемая в пищевой промышленности и в повседневной жизни обычная питьевая (пищевая) сода – также имеет выраженное моллюскоцидное действие: это средство в концентрациях 1:10–1:200 убивает 100 % моллюсков за 24 часа, а в соотношении с водой биотопа 1:250 приводит к гибели 95 % моллюсков в течение 48 часов.

Следовательно, при отсутствии минеральных удобрений, т.е. хлорида калия, сульфата аммония, можно использовать и марганцовку (перманганат калия), перекись водорода в небольших концентрациях, 1:400000 и 1:40000 соответственно, а также имеющуюся в обиходе пищевую соду в соотношении с водой водоёма 1:250 [4, 5, 6, 7].

Эти средства, как и сульфат аммония, признаны Агентством интеллектуальной собственности Республики Узбекистан изобретениями, и на них выданы патенты (№ IAP05448; № IAP05449; № IAP05802; № IAP05573).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Горохов, В. В. Химические и биологические методы борьбы с моллюсками – промежуточными хозяевами гельминтов / В.В. Горохов // Гельминтозы с-х животных. Итоги науки, 1969. – М., 1970. – С. 132–170.
2. Жариков, И. С. Профилактика гельминтозов крупного рогатого скота в промышленных животноводческих комплексах Белорусской ССР / И. С. Жариков // Проблемы комплектования крупных ферм животными и ветеринарная охрана. – Тарту, 1975. – С. 190–196.
3. Мереминский, И. А. Прогнозирование фасциолёза и парамфистома-тоза жвачных животных / И. А. Мереминский // Ветеринария. – 1967. – № 5. – С. 76–78.
4. Средство для уничтожения пресноводных моллюсков семейства *Lymnaeidae*: пат. UZ № IAP05448 / А. О. Орипов, Н. Э. Юлдашев, И. А. Улашов // Бюллетень (Расмий ахборотнома). – № 9, 29.09.2017. – Агентство интел. собствен. – Ташкент, 2017.
5. Средство для уничтожения пресноводных моллюсков семейств *Lymnaeidae* и *Planorbidae*: пат. UZ № IAP05449 / А. О. Орипов, Н. Э. Юлдашев, И. А. Улашов // Бюллетень (Расмий ахборотнома). – № 9, 29.09.2017. – Агентство интел. собствен. – Ташкент, 2017.
6. Средство против моллюсков: пат. UZ № IAP05573 / А. О. Орипов, Н. Э. Юлдашев, Ш. А. Джаббаров // Бюллетень № 4, 30.04.2018. – Агентство интел. собствен. – Ташкент, 2018.
7. Средство против моллюсков: пат. UZ № IAP05802 / А. О. Орипов, Н. Э. Юлдашев, Ш. А. Джаббаров // Бюллетень № 5, 31.05.2019. – Агентство интел. собствен. – Ташкент, 2019.

Герасимчик В.А., доктор ветеринарных наук, профессор<sup>1</sup>

Кошнеров А.Г., магистр ветеринарных наук<sup>1</sup>

Дегтярик С.М., кандидат биологических наук<sup>2</sup>

Полоз С.В., кандидат ветеринарных наук<sup>2</sup>

Слободницкая Г.В., кандидат сельскохозяйственных наук<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>РУП «Институт рыбного хозяйства», г. Минск

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТА «СУЛЬФАПРИМ 48 БТ» ПРИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЯХ КАРПОВЫХ РЫБ

### Резюме

Инфекционные болезни карповых рыб бактериальной этиологии наносят прудовым хозяйствам значительный экономический ущерб. При проведении терапии и химиопрофилактики необходимо учитывать чувствительность возбудителей бактериозов к применяемым в хозяйствах антибиотикам, к которым у бактерий постепенно развивается резистентность. Поэтому изыскание новых высокоэффективных и безвредных средств лечения и профилактики аэромоноза является актуальной проблемой современного рыбоводства.

Применение ветеринарного препарата «Сульфаприм 48 БТ» при аэромонозе карпов позволяет получить высокий терапевтический эффект и не оказывает негативного влияния на организм рыб.

**Ключевые слова:** бактериозы, аэромоноз, терапевтическая эффективность, лечебный комбикорм, антибиотик, Сульфаприм 48 БТ, прудовое рыбоводство, рыба, карп.

### Summary

Significant economic damage to pond farms is caused by infectious diseases of bacterial etiology of carp. When conducting therapy and chemoprophylaxis, it is necessary to take into account the sensitivity of the causative agents of bacterioses to antibiotics used in farms, to which resistance is gradually developing in bacteria. Therefore, the search for new highly effective and harmless means of treatment and prevention of aeromonosis is an urgent problem of modern fish farming. The use of the veterinary preparation «Sulfaprim 48 BT» for carp aeromonosis allows to obtain a high therapeutic effect and does not adversely affect the fish organism.

**Keywords:** bacterioses, aeromonosis, therapeutic efficacy, medicinal feed, antibiotic, Sulfaprim 48 BT, pond fish farming, fish, carp.

Поступила в редакцию 03.12.2021 г.

### ВВЕДЕНИЕ

Развитие пресноводной аквакультуры привело к проявлению и распространению большого числа бактериальных заболеваний, которые наносят значительный ущерб рыбоводным хозяйствам (снижение качества рыбопродукции, упитанности, темпа роста, плодовитости, а также гибель рыб). При остром течении бактериальных болезней (аэромоноз, псевдомоноз, флексибактериоз) гибель рыб достигает 70 %, а в отдельных случаях доходит до 100 %.

Благополучие рыбоводных организаций по инфекционным болезням является важнейшим условием их развития. Про-

ведение плановых лечебно-профилактических мероприятий позволяет значительно повысить эффективность отрасли и дает возможность предотвратить массовый отход рыб.

В настоящее время применение многих препаратов в рыбоводстве запрещено либо ограничено, что сокращает арсенал лечебных и профилактических средств, доступных ихтиопатологам. В последние годы на предприятиях рыбоводной отрасли используется ряд антибактериальных препаратов, таких как энротим, ципрофлокс, рифампицин и др. Однако в связи с тем, что они применяются уже около

10 лет, чувствительность бактерий к ним снижается, а их использование становится малоэффективным.

В связи с этим разработка и адаптация для нужд рыбоводной отрасли современных эффективных и доступных препаратов, а также новых методов их применения для защиты рыб – объектов аквакультуры – от бактериальных инфекций является актуальной задачей науки. Применение таких средств и способов защиты от инфекционных болезней позволит минимизировать выбытие выращиваемой рыбы и снизить затраты на проведение противоэпизоотических мероприятий.

**Целью наших исследований** являлось проведение лабораторных и производственных испытаний препарата «Сульфатрим 48 БТ», произведенного ООО «БелЭкоТехника» (Республика Беларусь), при бактериозах карпа.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования по определению терапевтической эффективности препарата «Сульфатрим 48 БТ» при бактериальных инфекциях карпа, а также установление его влияния на организм рыб проводились в условиях лаборатории болезней рыб РУП «Институт рыбного хозяйства» и рыбохозяйственных предприятий.

Бактериологические исследования проводились по общепринятым в ихтиопатологии методикам [1, 5, 6, 7, 8]. Определение видовой принадлежности бактерий осуществляли согласно определителю Берджи [3] и при помощи тест-системы API (API 20 E, API Staph).

Экспериментальная часть работы была проведена в боксовых и аквариальных помещениях лаборатории болезней рыб РУП «Институт рыбного хозяйства». Для постановки экспериментов в лабораторных условиях было использовано 140 экземпляров сеголетка карпа, завезенных из рыбоводных хозяйств Республики Беларусь (СПУ «Изобелино» и ОАО ОРХ «Селец»).

Для экспериментальной работы при определении чувствительности возбудите-

лей бактериальных инфекций к антибиотикам были использованы находящиеся в коллекции лаборатории штаммы бактерий родов *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Shewanella*, изолированные от больных рыб.

На начальном этапе работы была определена чувствительность патогенных штаммов бактерий к препарату «Сульфатрим 48 БТ» методом диффузии в агар с использованием бумажных дисков. Подготовку осуществляли в лабораторных условиях: стерильные бумажные диски пропитывали препаратом из расчета 5 мкг АДВ на 1 диск (аналогично стандартным дискам фабричного изготовления).

Суспензию суточной культуры указанных бактерий готовили на изотоническом растворе натрия хлорида, после чего засеивали по 1 мл на агар в чашки Петри, просушивали в течение 30–40 минут и накладывали диски (по 1 диску на чашку), пропитанные водной суспензией препарата «Сульфатрим 48 БТ» из расчета 5 мкг АДВ на диск.

В качестве контроля использовали чашки, засеянные аналогичными бактериальными культурами, но с дисками, пропитанными дистиллированной водой без препарата.

Каждый опыт проводили в 3 повторностях. После инкубации в термостате в течение 24 часов при температуре плюс 26 °С измеряли диаметры зон задержки роста (в миллиметрах). При наличии зоны задержки роста до 11 мм включительно штамм определяли как нечувствительный (резистентный) к препарату, 12–15 мм – малочувствительный, 16–25 мм – чувствительный, более 25 мм – высокочувствительный [3, 9, 10].

Следующим этапом экспериментальной работы было внесение препарата на поверхность агара из расчета 40, 80 и 160 мг препарата на 10 мл среды, что соответствует в пересчете на лечебный корм 4, 8 и 16 кг/т. На поверхность застывшего агара бактериологической петлей высевали по секторам бактериальные культуры. Контролем служили чашки, засеянные те-

ми же микроорганизмами, но без добавления препарата «Сульфатрим 48 БТ».

Для постановки опытов по определению терапевтической активности препарата *in vivo* и токсичности использовали сеголетков карпа (60 экземпляров). На момент проведения экспериментов рыба была клинически здорова, упитана, носительства эктопаразитов, а также наличия эндопаразитов, признаков инфекционных заболеваний не наблюдалось. Для проведения опытов рыба была завезена из благополучных по инфекционным заболеваниям организаций – ОАО «Опытный рыбхоз “Селец”» и СПУ «Изобелино». При проведении исследований подопытную рыбу размещали в аквариумах емкостью 60 л по 10 экземпляров в каждой группе при постоянной аэрации. Контролем служили аквариумы, в которых рыба содержалась в аналогичных с опытными условиях, но не подвергалась обработке препаратом.

Для проведения экспериментов определенное количество препарата «Сульфатрим 48 БТ» (500–6000 мг/100 мл) растворяли в теплой воде и задавали рыбе *per os* при помощи катетера исходя из индивидуальной массы каждой особи по формуле:

$$X = 0,02A,$$

где  $X$  – количество суспензии препарата (мл);

$A$  – масса рыбы (г).

В каждом варианте опыта (для каждой дозы) и в контроле исследовали по 10 экземпляров карпа. Препарат задавали ежедневно 5 дней подряд. Испытывали следующие дозы: 40 мг/кг (мг препарата на кг живой массы рыбы), 60, 80, 100, 120 и 140 мг/кг.

Для определения эффективности препарата «Сульфатрим 48 БТ» карпов в начале опытов инфицировали патогенным штаммом *Aeromonas* № 56. Для ускорения инфекционного процесса и проявления соответствующих клинических признаков жидкую суточную бактериальную культуру в концентрации  $3 \times 10^9$  микробных клеток в 1 мл суспензии вводили внутривентрально путем инъекции под грудной плав-

ник по 0,2–0,3 мл в зависимости от размера и массы рыбы. После проявления признаков бактериальной инфекции (гиперемированные участки, ерошение чешуи, экзофтальмия, язвы) рыбам из опытных групп начали задавать препарат в перечисленных выше дозах. Рыба из контрольных групп препарат не получала.

Наблюдение за подопытной рыбой вели в течение 14 дней, при этом регистрировали отклонения в поведении, появление или исчезновение клинических признаков бактериозов, гибель рыб. Ежедневно во всех вариантах опытов рыб подвергали клиническому осмотру, а в конце опыта – патологоанатомическому вскрытию. Если у рыб развивались клинические признаки инфекционного процесса, отмечали, что рыба «заболела», а если процесс оканчивался гибелью – «погибла».

Острую и хроническую токсичность препарата для рыб изучали согласно соответствующим методическим указаниям [2, 3, 4]. Использовали 70 экземпляров сеголетков карпа. На момент проведения экспериментов вся рыба была клинически здорова, упитана, носительства эктопаразитов, а также наличия эндопаразитов, признаков инфекционных заболеваний не наблюдалось. При проведении исследований рыбу разместили в аквариумах емкостью 60 л по 10 экземпляров на каждый вариант опыта и контроля. Ежедневно рыб подвергали клиническому осмотру, а в конце опыта – патологоанатомическому вскрытию, оценивая состояние внутренних органов.

Для определения острой токсичности исследуемый препарат скармливали в дозах 100, 150, 300, 600 мг/кг (дозы, до 6 раз превышающие предполагаемую терапевтическую). Количество суспензии препарата (мл), задаваемое каждой рыбе, рассчитывали по формуле. Препарат задавали ежедневно в течение 5 дней. Рыба из контрольных групп препарат не получала.

Хроническую токсичность препарата изучали на том же виде рыб, размещенных по 10 экземпляров в опытных аквариумах (препарат задавали в течение 14 дней

в малой дозе – 40 мг/кг) и по 10 экземпляров в контрольных аквариумах (условия содержания, аналогичные опытным, но препарата рыба не получала). Наблюдение за рыбой велось в течение 30 дней после окончания эксперимента.

Производственные испытания препарата «Сульфатрим 48 БТ» проводились в условиях ОАО «Рыбхоз “Тремля”» Петриковского района Гомельской области на фоне принятых в хозяйстве технологий ведения рыбоводства, условий кормления и содержания, а также схем ветеринарных мероприятий. Для определения терапевтической эффективности препарата «Сульфатрим 48 БТ» был использован двухлеток карпа в нагульном пруду № Н-1 площадью 50 га. В качестве контроля – двухлеток карпа в нагульном пруду № Н-4 площадью 86 га. В качестве препарата-сравнения был выбран Энротим 10 %, произведенный ООО «ТМ» (Республика Беларусь).

Рыбам опытной группы применяли препарат «Сульфатрим 48 БТ» в виде лечебного гранулированного корма в дозе 100 мг АДВ/кг массы рыбы (2 кг препарата на 1 т комбикорма). Лечебный гранулированный корм с препаратом применяли из расчета 5 % от массы рыбы 5 дней подряд.

Таблица 1. – Чувствительность условно-патогенных для рыб бактерий к препарату Сульфатрим 48 БТ» *in vitro*

Вид бактерий	Диаметр зоны задержки роста, мм
<i>Aeromonas hydrophila</i> № 56 (карп)	20–25
<i>Proteus mirabilis</i> № 6 (форель)	15–18
<i>Shewanella putrefaciens</i> № 47 (ленский осетр)	22–24
<i>Pseudomonas sp.</i> № 18 (пестрый толстолобик)	16–20

Отмечено, что довольно высокой чувствительностью к препарату обладают бактерии родов *Aeromonas* и *Shewanella*, средней – бактерии родов *Proteus* и *Pseudomonas*.

На следующем этапе опытов препарат «Сульфатрим 48 БТ» в различных концентрациях вносили непосредственно в твердую питательную среду (агар), на поверхность которого после подсушивания высевали секторами перечисленные выше бактерии. Исследовали антимикробное

Рыбам контрольной группы назначали препарат «Энротим 10 %» в виде лечебного гранулированного корма в дозе 25 мг АДВ/кг массы тела рыбы (2,5 кг на 1 т корма) в течение 5 дней.

По истечении 10 дней после применения лечебного комбикорма из обоих прудов осуществляли контрольный отлов рыбы. Терапевтическую эффективность определяли по отсутствию клинических признаков заболевания, наличию осложнений и летальности в опытной и контрольной группах рыб.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении *in vitro* чувствительности условно-патогенных для рыб бактерий к ветеринарному препарату «Сульфатрим 48 БТ» диско-диффузным методом использовались бактериальные штаммы, находящиеся в коллекции лаборатории болезней рыб РУП «Институт рыбного хозяйства», выделенные от больных рыб: *Aeromonas hydrophila* № 56 (от карпа), *Proteus mirabilis* № 6 (от форели), *Shewanella putrefaciens* № 47 (от ленского осетра), *Pseudomonas sp.* № 18 (от пестрого толстолобика). Результаты исследований представлены в таблице 1.

действие препарата в следующих дозах: 2 мг/г (2 мг препарата на 1 г среды), что соответствует дозе 2 кг/т (2 кг препарата на 1 т комбикорма), 4 мг/г (4 кг/т) и 8 мг/г (8 кг/т).

В результате эксперимента установлено, что препарат «Сульфатрим 48 БТ» обладает средней и высокой антимикробной активностью по отношению к условно-патогенным для рыб бактериям – представителям группы энтеробактерий, относящимся к родам *Aeromonas*, *Proteus*, *Shewanella* и *Pseudomonas*, в то время как во

всех контрольных чашках задержки роста не наблюдалось.

При изучении **лечебной эффективности** препарата «Сульфаприм 48 БТ» *in vivo* установлено, что при введении бактерий внутрибрюшинно до применения антибиотика почти во всех вариантах опыта за-

болели все рыбы – 100 % (в редких случаях – 90 %), причем развивались характерные для аэромоноза клинические признаки: гиперемированные участки на коже, экзофтальмия, ерошение чешуи, язвы в районе грудных плавников. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2. – Эффективность лечебного действия препарата «Сульфаприм 48 БТ» при применении методом лечебных ванн

Доза препарата, мг/кг	Заболело, %	Погибло, %
40	100	90
60	90	70
80	90	30
100	100	0
120	100	0
140	100	0
К	100	100

Данные, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что с лечебной целью препарат следует применять в концентрации не ниже 100 мг/кг массы рыбы. При его использовании в указанной дозе ни одна особь рыбы не погибла. В то же время при назначении препарата в более низких дозах погибло 30–90 % заболевших карпов, а в контрольных группах на 3–7-е сутки эксперимента погибли все карпы.

Из этого следует, что для лечения бактериальных инфекций у рыб оптимальной концентрацией препарата «Сульфаприм 48 БТ» является 100 мг/кг массы рыбы. В пересчете на лечебный корм это составляет 2 кг/т для карповых рыб, потребляющих 5 % корма от общей массы рыбы.

В результате эксперимента по изучению **острой токсичности** препарата для рыб установлено, что ни терапевтическая доза (100 мг/кг), ни доза, превышающая ее в 6 раз (600 мг/кг), не вызывали симптомов отравления, отклонений в поведении рыбы или ее гибели. Сеголетки карпа в опытных и контрольных аквариумах были подвижны и активны, охотно брали корм. При клиническом осмотре патологических изменений не обнаружено ни в одном варианте опыта. При патологоанатомическом вскрытии изменений внутренних органов не установлено. Это свидетельствует о том,

что препарат «Сульфаприм 48 БТ» не токсичен для карповых рыб. LD50 установить не удалось, поскольку за период наблюдения гибели рыб не зарегистрировано.

В результате эксперимента по изучению **хронической токсичности** при длительном применении препарата «Сульфаприм 48 БТ» в малой дозе не установлено какого-либо токсического воздействия на организм рыб. Подопытные карпы оставались живы на протяжении всего срока эксперимента и последующего наблюдения. Не отмечено отклонений в их поведении, а также не выявлено изменений со стороны кожного покрова, жабр и плавников. При вскрытии внутренние органы находились в пределах нормы, без каких-либо изменений. Рыбы из опытных групп ничем не отличались от рыб контрольных групп.

При проведении **производственных испытаний по определению эффективности опытных образцов** препарата «Сульфаприм 48 БТ» групповым способом на двухлетке карпа перед применением препаратов «Сульфаприм 48 БТ» и «Энротим 10 %» рыба, содержащаяся в прудах № Н-1 и № Н-4, была обследована на аэромоноз. При клиническом осмотре у некоторых карпов отмечалось снижение активности и упитанности, анемичность жабр, ерошение чешуи, геморрагии, асцит.

По истечении 10 дней после применения лечебного комбикорма из обоих прудов осуществили контрольный отлов рыбы. При осмотре признаков заболевания выявлено не было: чешуя цельная, блестящая, с перламутровым оттенком, удерживается прочно, асцита, геморрагий и ерошения чешуи не отмечено.

Отхода рыбы в опытной и контрольной группе не отмечено, побочных явлений также не выявлено.

В результате производственного эксперимента установлено, что по терапевтической эффективности препарат «Сульфатрим 48 БТ» не уступает препарату-аналогу «Энротим 10 %».

Таким образом, препарат ветеринарный «Сульфатрим 48 БТ» показал высокий терапевтический эффект, способствовал клиническому выздоровлению рыбы в течение лечебного периода и в дальнейшем может быть рекомендован при лечении аэромоноза карпа.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения острой и хронической токсичности препарата «Сульфатрим 48 БТ» установлено, что он не токсичен для рыб.

Сульфатрим 48 БТ характеризуется высокой антимикробной активностью по отношению к условно-патогенным для рыб бактериям – представителям родов *Aeromonas*, *Proteus*, *Shewanella*, *Pseudomonas*.

Препарат «Сульфатрим 48 БТ» обладает терапевтическим действием в отношении возбудителей аэромоноза карповых рыб при назначении в дозе 100 мг/кг массы тела, что в пересчете на лечебный корм составляет 2 кг/т для карповых рыб, потребляющих 5 % корма от общей массы рыбы. Кормление следует осуществлять ежедневно 5 дней подряд, задавая суточную норму корма 1 раз в сутки.

Товарной рыбе скармливание лечебного корма с препаратом прекращают не позднее 4 недель до отлова и реализации ее в торговую сеть.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Герасимчик, В. А. *Болезни рыб и пчел: учеб. пособие для студентов учреждений высшего образования по специальности «Ветеринарная медицина»* / В. А. Герасимчик, Е. Ф. Садовникова. – Минск : ИВЦ Минфина, 2017. – 293 с.
2. *Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве* / Министерство сельхозпроды СССР. – М., 1988. – 18 с.
3. *Методические указания по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных // Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции : справочник / сост. Б. И. Антонов [и др.] ; под ред. Б. И. Антонова. – М. : Агропромиздат, 1986. – С. 270–278.*
4. *Методические указания по токсикологической оценке химических веществ и фармакологических препаратов, применяемых в ветеринарии: методические указания* / Национальная академия наук Беларуси, Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелецкого ; сост. А. Э. Высоцкий [и др.]. – Минск, 2007. – 156 с.
5. *Методы общей бактериологии : учеб.-метод. пособие / сост. Д. А. Васильев [и др.]. – Ульяновск : Ульяновская ГСХ, 2008. – 130 с.*
6. *Терапевтическая эффективность ветеринарного препарата «Неомицин ВБФ» при бактериозах карповых рыб* / В. А. Герасимчик [и др.] // *Ветеринарный журнал Беларуси. – Витебск, 2020. – Вып. 1 (12). – С. 16–20.*
7. Юхименко, Л. Н. *Временные рекомендации по выделению и идентификации аэромонад* / Л. Н. Юхименко, В. Ф. Викторова, И. Фаркаш. – М. : ВНИИПРХ, 1987. – 14 с.
8. Юхименко, Л. Н. *Современное состояние проблемы аэромоноза рыб* / Л. Н. Юхименко, Г. С. Койдан // *Экспресс-информация / Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментального рыбного хозяйства. – М., 1997. – Вып. 2. – С. 1–5.*
9. *Methods for the determination // ClinMicrobiol Infect of susceptibility of bacteria to antimicrobial agents. EUCAST Definitive document. – 1998. – Vol. 4. – P. 291–296.*
10. *NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing : 9-th informational supplement M100-S9. – 1999. – Vol. 19. – № 1. – P. 26.*



## К ЮБИЛЕЮ КРАСОЧКО ИРИНЫ АЛЕКСАНДРОВНЫ

Ирина Александровна Красочко родилась в Витебске 6 декабря 1961 г. В 1979 г. с Золотой медалью окончила СШ № 9 г. Витебска и поступила в Витебский ветеринарный институт, который с отличием окончила в 1984 г.

Трудовую деятельность начала в должности ветеринарного врача учебного хозяйства «Подберезье» Витебского ветеринарного института. С 1985 по 1989 гг. работала в Молдавском НИИ животноводства и ветеринарии, с 1989 г. обучалась в аспирантуре при Белорусском НИИЭВ им. С.Н. Вышелесского. С 1991 по 2017 гг. работала в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» на должностях младшего, старшего научного сотрудника, ученого секретаря. С 2018 г. ра-

ботает профессором кафедры микробиологии и вирусологии учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины».

В 1993 г. Красочко И.А. защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук на тему «Вирусная диарея крупного рогатого скота (лабораторная диагностика и распространение в Беларуси)», а в 2005 г. – докторскую диссертацию на тему «Этиология, патогенез и меры борьбы с заболеваниями респираторных, желудочно-кишечных и репродуктивных органов зубров и крупного рогатого скота». Ученое звание профессора присвоено в 2012 г.

У Ирины Александровны широкое поле научно-организационной деятельности. Ею опубликовано 335 научных работ, в том числе 14 монографий и справочников, 2 учебных пособия с грифом Министерства образования Республики Беларусь, 220 научных статей. Разработала 30 методических рекомендаций и указаний, 35 пакетов нормативно-технической документации на ветеринарные препараты. Является автором 43 патентов.

Профессор Красочко И.А. подготовила 3 кандидатов наук, 3 магистров наук, в настоящее время руководит выполнением 5 кандидатских диссертаций и 1 магистерской.

Ирина Александровна оказывает консультативную и практическую помощь ветеринарным специалистам. Под ее руководством в ветеринарную практику внедрено 6 научных разработок, утвержденных Департаментом ветеринарного и продовольственного надзора Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, которые позволяют обеспечить благополучие республики по ряду инфекционных заболеваний, повысить эффективность лечебных, общих и специальных мероприятий при соответствующих инфекционных болезнях.

Является членом Совета по защите диссертаций Д 01.51.01 при РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», экспертом Совета по ветеринарным препаратам Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, экспертом Белорусского фонда фундаментальных исследований, Государственного комитета по науке и технологиям Республики Беларусь.

Ее научные достижения нашли признание научной общественности как в Беларуси, так и далеко за её пределами. Ирина Александровна награждена Серебряной медалью Международной академии авторов научных открытий и изобретений «За успехи в деле изобретательства»; медалью РАСХН «За развитие биологической науки и промышленности»; почетными грамотами Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Национальной академии наук Беларуси, Государственного комитета по науке и технологиям Республики Беларусь, ВАК Беларуси, а также местных органов власти.

Коллеги сердечно поздравляют Ирину Александровну, желают ей большого запаса здоровья, невероятных сил и энергии, профессиональных свершений, ощущения бодрости и оптимизма, благополучия, счастья и удачи!

## К 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ИВАНА СЕМЕНОВИЧА ЖАРИКОВА (1921-2003)



15 сентября 1921 г. исполнилось 100 лет со дня рождения заслуженного деятеля науки БССР, профессора, доктора ветеринарных наук, участника Великой Отечественной войны, бывшего директора Белорусского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского Жарикова Ивана Семеновича.

Жариков И.С. родился в крестьянской семье в деревне Хатиловичи Кричевского района Могилевской области. Здесь же прошли его детские и школьные годы. Учебу начал в 1929 г., в 1936 г. окончил 7 классов Сокольнической неполной средней школы, в 1937 г. – 8-й класс Кричевской средней школы им. В.И. Ленина.

В 1937 г. он поступил в Чериковский ветеринарный техникум, который закончил в 1941 г. С июня по июль 1941 г. работал помощником ветврача Кричевского РайЗО. Потом был призван в Советскую армию и с 1941 по 1946 гг. служил в составе воинских частей на Западном, Воронежском, Центральном, 1-м и 4-м Украинских фронтах. В 1944 г. вступил в ряды КПСС.

В 1946 г. И.С. Жарикова зачисляют слушателем подготовительных курсов при Военно-ветеринарной академии Советской армии (г. Москва), а после их окончания с 1946 по 1948 гг. он являлся слушателем Военной ветеринарной академии, с 1948 по 1951 гг. – студентом Московской ветеринарной академии. После окончания ветеринарного факультета этого престижного вуза с 1951 по 1953 гг. И.С. Жариков работал преподавателем специальных дисциплин ветзоотехникума в г. Климовичи Могилевской области. В 1953 г. он был отозван в аппарат ЦК КПБ на должность инструктора сельхозотдела, где проработал до 1957 г. С 1957 по 1960 гг. являлся ученым секретарем Белорусского научно-исследовательского ветеринарного института АСХН БССР. С 1960 по 1962 гг. – аспирант очного отделения аспирантуры этого научно-исследовательского института. В декабре 1962 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук. После окончания аспирантуры работал младшим, а затем старшим научным сотрудником БелНИВИ.

В 1965 г. И.С. Жариков был переведен на должность зав. отделом радиобиологии БелНИВИ, а в 1966 г. – в МСХ БССР на должность начальника Главного управления по подготовке кадров. В марте 1968 г. приказом министра сельского хозяйства БССР назначен на должность директора БелНИВИ (с августа 1975 г. – Белорусский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского), которым руководил до 1988 г. Здесь он в 1975 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук по теме «Парамфистоматидозы крупного рогатого скота в Беларуси

(распространение, диагностика, биология основного возбудителя (*L. scotiae*), терапия, профилактика и меры борьбы)». В ноябре 1977 г. ВАК СССР присвоила И.С. Жарикову ученое звание профессора по специальности «Паразитология». В декабре 1978 г. ему присвоено почетное звание Заслуженного деятеля науки БССР.

За время работы И.С. Жарикова директором институт превратился в крупное научно-исследовательское учреждение, ведущий центр ветеринарной науки в Беларуси, координирующий проблемы ветеринарии в Западном регионе СССР, достижения которого были известны и за рубежом. В 1988 г. в БелНИИЭВ им. С.Н. Вышелесского функционировало 12 отделов. Штат института составлял 313 человек, в том числе научных сотрудников – 112, среди которых 73 кандидата, 6 докторов наук и 3 профессора.

И.С. Жариков выполнял большую общественную работу. Он избирался депутатом Минского районного и областного Советов депутатов трудящихся, членом Минского РК и Минского обкома КПБ. Являлся председателем Ученого совета БелНИИЭВ и специализированного Совета по защите кандидатских диссертаций, членом секции гельминтологии Отделения ветеринарии ВАСХНИЛ, межведомственного Совета по сельскому хозяйству при Совете Министров БССР, председателем проблемного Совета по координации научно-исследовательской работы по ветеринарии в БССР, членом координационного Совета по гельминтологии, членом ВОГ АН СССР, членом Ученого совета секции «Природная очаговость болезней» АН СССР, членом ветеринарной секции НТС МСХ БССР, председателем президиума Минской организации общества «Знание».

И.С. Жариков являлся научным руководителем задания «Разработать и внедрить новые эффективные меры и средства борьбы с инфекционными, инвазионными и незаразными болезнями животных», ориентированного на обеспечение стойкого благополучия животноводческих ферм и комплексов, высокого ветеринарно-санитарного качества продукции животноводства, охрану населения от болезней, передающихся от животных человеку. Он возглавлял и координировал основные направления исследований в Беларуси по изучению и разработке мероприятий по борьбе с паразитарными болезнями сельскохозяйственных и промысловых животных. На основании многолетних исследований Иван Семенович разработал систему мер борьбы с наиболее опасными трематодозами жвачных животных. Широкое использование ее в производстве позволило сократить до минимума заболеваемость и падеж животных.

И.С. Жариковым опубликовано 120 научных работ, в том числе 8 монографий и книг (часть в соавторстве). Наибольшей популярностью пользуются «Фасциолез сельскохозяйственных животных и борьба с ним» (1962), «Трематодозы домашних животных» (1970), «Биологические основы борьбы с трематодозами животных», «Гельминтозы жвачных животных» (1976), «Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий» (1981), «Лекарственные средства и биопрепараты в ветеринарии» (1987) и др. При содействии Ивана Семеновича создан научно-популярный фильм «Фасциолез сельскохозяйственных животных».

И.С. Жариков – автор 8 изобретений и 4 рацпредложений. Он подготовил 10 кандидатов наук.

За боевые и трудовые заслуги И.С. Жариков награжден 3 орденами: Отечественной войны II степени, Красной Звезды, Трудового Красного Знамени и 11 медалями, а также 2 Почетными грамотами Верховного Совета БССР.

В эту юбилейную дату ветеринарная общественность, коллектив РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» тепло вспоминают Ивана Семеновича Жарикова, жизнь которого – пример трудового подвига великого ученого, ориентир для молодого поколения.

**С.С. Липницкий, кандидат ветеринарных наук**

**УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!**

15-16 сентября 2022 года в г. Минске (Республика Беларусь) состоится  
Международная научно-практическая конференция  
«**СОВРЕМЕННЫЕ ДОСТИЖЕНИЯ В РЕШЕНИИ АКТУАЛЬНЫХ ПРОБЛЕМ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА**»,  
посвященная 100-летию РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»

**ОРГАНИЗАТОР КОНФЕРЕНЦИИ** – РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского».  
Рабочий язык конференции – русский. Участие в конференции и публикация материалов – бесплатные!

**ВНИМАНИЕ!**

К участию в конференции приглашаются ведущие ученые и молодые специалисты из различных регионов Беларуси, а также стран ближнего и дальнего зарубежья.

Рукописи статей должны быть посвящены проблемам в области ветеринарной медицины, биологии, зоотехнии, иммунологии, биотехнологии, фармакологии, санитарии и др.

Статьи подаются в одном экземпляре в отпечатанном виде на бумаге формата А4, а также в электронном варианте или высылаются по электронной почте (e-mail: knir@tut.by) в редакционный отдел института.

В выходных данных статьи указываются УДК, **название статьи, фамилии и инициалы авторов на русском и английском языках**, их ученые степени и звания, учреждение, город, страна. Статья должна состоять из следующих разделов: введение, материалы и методы, результаты исследований, обсуждение, заключение или выводы. Допускается публикация статей обзорного типа без разбивки на разделы.

**К СТАТЬЕ ДОЛЖНЫ БЫТЬ ПРИЛОЖЕНЫ:**

- сопроводительное письмо соответствующего учреждения (организации);
- реферат объемом до 1000 знаков **на русском и английском языках**;
- ключевые слова (от 5 до 15 слов или словосочетаний из текста статьи) **на русском и английском языках**;
- контактная информация: фамилия, имя и отчество автора полностью, занимаемая должность, ученая степень, звание и полное наименование учреждения (организации). Кроме того, должны быть указаны телефоны, адрес и e-mail авторов. В случае, если статья написана коллективом авторов, сведения должны подаваться по каждому автору отдельно;
- экспертное заключение организации о возможности опубликования.

**К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЕЙ ПРЕДЪЯВЛЯЮТСЯ СЛЕДУЮЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ:**

- рукопись, представленная в электронном варианте, должна быть набрана в текстовом редакторе Microsoft Word. Формат бумаги А 4, поля: левое – 3 см, правое – 1,5 см, верхнее и нижнее – 2 см;
- текст статьи должен быть на русском языке;
- для набора текстов использовать шрифт Times New Roman (размер шрифта 14, с полуторным интервалом), количество печатных знаков от 14000 до 25000;
- таблицы набираются непосредственно в редакторе Word;
- формулы составляются в редакторе формул Microsoft Equation, доступном из редактора Word;
- рисунки (диаграммы, графики, схемы) должны быть подготовлены с помощью любой из следующих программ: Excel, Power Point, Photoshop, Corel Draw. Все рисунки должны сопровождаться подрисуночной подписью;
- размерность величин, используемых в статьях, должна соответствовать Международной системе единиц измерения (СИ);
- список литературы оформляется в соответствии с ГОСТ 7.1-2003 «Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления». Литература должна быть представлена общим списком (не более 10–15 источников). Библиографические записи располагаются в алфавитном порядке на языке оригинала или в порядке появления ссылок по тексту статьи. Ссылки в тексте обозначаются порядковой цифрой в квадратных скобках.

Объем статьи – не более пяти страниц книжного формата А4.

От одного автора может быть принято не более двух работ в личном или коллективном исполнении.

**Редакционный совет оставляет за собой право отклонять материалы, которые не соответствуют тематике либо оформлены с нарушением правил**